

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA**  
**Y ANÁLISIS INSTRUMENTAL**



**DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA DE DIAMINAS**  
**AROMÁTICAS.**

**CARMEN SAGRARIO HERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ**  
**Madrid, Diciembre 2008**



Tesis Doctoral

Carmen Sagrario Hernández Domínguez

DETERMINACIÓN ELECTROQUÍMICA DE  
DIAMINAS AROMÁTICAS

Directores

Prof. Dr Pedro Hernández Hernández

Profesor Titular del Departamento de Química Analítica y  
Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Universidad  
Autónoma de Madrid

Prof. Dr José Vicente Hernández

Profesor Titular del Departamento de Química Analítica y  
Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Universidad  
Autónoma de Madrid

2008



*A mis padres, a Fernando y a Vega*



## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero dar las gracias:

Al profesor titular Dr. D. PEDRO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, director de esta tesis y ante todo, “un padre más que un jefe”. Quien más confianza e ilusión ha tenido en que yo iba a sacar todo esto adelante, incluso cuando yo misma no me sentía capaz. Además de haber sido la mayor contribución en mi formación científica y haber despertado mi curiosidad por la investigación. Por ser un ejemplo y un referente a seguir en todos los aspectos. Y sobre todo por habermelo enseñado todo en la vida.

Al profesor titular Dr. D JOSÉ VICENTE HERNÁNDEZ, director de esta tesis, por apoyarme en todos los proyectos de trabajo surgidos durante todo este tiempo, por estar SIEMPRE ahí, tanto en los buenos como en los malos momentos. Y sobre todo, por nuestras largas conversaciones acerca de los más diversos temas.

Al Catedrático Dr. D. LUCAS HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, por su apoyo, confianza y colaboración en la corrección de la presente memoria. Y sobre todo por sus enseñanzas en todos los aspectos.

A los profesores del Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental, que me han echado una mano y contribuido a mi formación científica.

A mis amigos y a los compañeros del laboratorio que me han apoyado y animado durante la realización de esta tesis.

Y por supuesto a mi familia, sin cuyo incondicional apoyo y paciencia no habría tenido lugar esta tesis. Y también por los consejos dados para poder superar mis momentos de crisis. Y sobre todo por haber estado ahí cuando más los he necesitado.





## ÍNDICE



<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>pag 6</b>
➤ Antecedentes	pag 7
➤ Objetivo y plan de trabajo	pag 16
<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>pag 17</b>
➤ Reactivos	pag 18
➤ Aparatos	pag 18
➤ Procedimientos	pag 19
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>pag 24</b>
<b>4,4'-Diaminodifenil amina</b>	<b>pag 25</b>
<b>Estudios con el electrodo sin modificar</b>	pag 26
➤ Variables químicas	pag 27
➤ Variables instrumentales	pag 33
➤ Recta de calibrado	pag 41
<b>Estudios con el electrodo modificado con C18</b>	pag
➤ Variables químicas	pag 45
➤ Variables instrumentales	pag 55
➤ Recta de calibrado	pag 64
<b>Estudios con el electrodo modificado con C8</b>	pag 66
➤ Variables químicas	pag 67
➤ Variables instrumentales	pag 77
➤ Recta de calibrado	pag 84
<b>Aplicación</b>	pag 86
<b>4,4'-Oxidianilina</b>	<b>pag 92</b>
<b>Estudios con el electrodo sin modificar</b>	pag 93
➤ Variables químicas	pag 93
➤ Variables instrumentales	pag 97
➤ Recta de calibrado	pag 106
<b>Estudios con el electrodo modificado con C18</b>	pag 109
➤ Variables químicas	pag 109
➤ Variables instrumentales	pag 117
➤ Recta de calibrado	pag 122
<b>Estudios con el electrodo modificado con C8</b>	pag 124
➤ Variables químicas	pag 124
➤ Variables instrumentales	pag 134
➤ Recta de calibrado	pag 141
<b>Aplicación</b>	pag 143

<b>4,4'-Tiodianilina</b>	<b>pag 147</b>
<b>Estudios con el electrodo sin modificar</b>	pag 149
➤ Variables químicas	pag 149
➤ Variables instrumentales	pag 155
➤ Recta de calibrado	pag 163
<b>Estudios con el electrodo modificado con C18</b>	pag 166
➤ Variables químicas	pag 166
➤ Variables instrumentales	pag 174
➤ Recta de calibrado	pag 183
<b>Estudios con el electrodo modificado con C8</b>	pag 184
➤ Variables químicas	pag 184
➤ Variables instrumentales	pag 190
➤ Recta de calibrado	pag 193
<b>Aplicación</b>	pag 200
 <b>VALIDACIÓN DEL MÉTODO POR HPLC</b>	 <b>pag 202</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>pag 220</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>pag 224</b>

## INTRODUCCIÓN



## **Antecedentes**

La presente tesis se enmarca en la línea de investigación dedicada a la puesta a punto de técnicas electro-analíticas para la determinación de compuestos potencialmente cancerígenos del Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental de la Universidad Autónoma de Madrid. Unos compuestos potencialmente cancerígenos son las diaminas aromáticas, que se encuentran como contaminantes del medio ambiente disueltas en aguas residuales procedentes de industrias papeleras y textiles, como consecuencia de la manufactura de papel y de textiles.

Los colorantes y pigmentos (45) utilizados para la tintura o el acabado de tejidos pueden contener o producir bajo determinadas circunstancias algunas aminas aromáticas consideradas cancerígenas o potencialmente cancerígenas, como las que son objeto de estudio en esta memoria.

Las aminas aromáticas (31) son muy utilizadas como intermediarios en la producción de tinte, pesticidas y productos farmacéuticos a pesar de sus propiedades tóxicas. Se ha confirmado que diaminas aromáticas como la 4,4'-tiodianilina (TDA), 4,4'-oxidianilina (ODA) y 4,4'-diaminodifenilmetano (DADPM) presentan efectos negativos para la salud (32) y además son potencialmente cancerígenas.

Desde el punto de vista analítico, en muchas ocasiones para la preparación de la muestra suele ser necesario aislar de la matriz y concentrar el compuesto orgánico de interés. En este contexto es fundamental desarrollar y mejorar métodos para la preparación de dichas muestras.

Es muy común preconcentrar las aminas aromáticas mediante extracción líquido-líquido o mediante extracción en fase sólida (SPE) (42), seguido de determinación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o por cromatografía de gases (GC). Sin embargo, la extracción líquido-líquido requiere mucho tiempo, conlleva procedimientos muy complicados y necesita grandes cantidades de disolventes. Por otro lado, aunque la SPE requiera menos cantidad de disolvente, la presencia de algunas partículas puede provocar el taponamiento de los cartuchos.

La microextracción en fase sólida (SPME) es una técnica de extracción relativamente nueva. La SPME integra la toma de muestra, extracción, concentración e introducción de la muestra en un solo proceso, y lo más importante, que no es necesario el empleo de disolventes durante la extracción. La aplicación más extendida de la SPME se encuentra en la separación y análisis por GC.

Los efectos genotóxicos (36, 41) de estas moléculas, detectados mediante tests biológicos, pueden confirmarse y explicarse a través del uso de métodos de análisis químicos. Con este propósito se desarrollaron, optimizaron y validaron métodos analíticos sensibles y fiables.

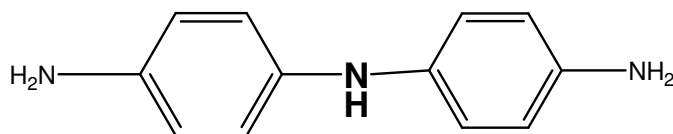
Para comprobar estos efectos fueron seleccionadas una serie de sustancias genotóxicas o potencialmente genotóxicas (38), las cuales eran producidas o usadas industrialmente y probablemente vertidas en aguas superficiales en grandes cantidades. Para la detección analítica de estos compuestos se empleó GC acoplada con MS y combinada con la técnica de microextracción en fase sólida.

Para su seguimiento se emplearon dos grupos de compuestos: derivados polares de fenildiaminas y por otro lado derivados de anilina, aminonaftaleno, aminoantraquinonas, compuestos azoicos aromáticos y nitro compuestos, llevándose a cabo el análisis en aguas procedentes de los ríos Rin y Elba con límites de detección inferiores a 10ng/L (39, 40).

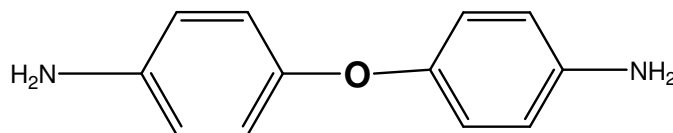
También se han llevado a cabo análisis discriminatorios para predecir la capacidad de las aminas aromáticas (37) a la hora de inducir cáncer en humanos y animales basado en un modelo topológico de descriptores de varios tipos. El sistema de test consistió en el empleo de un grupo de dieciocho compuestos cancerígenos y de un segundo grupo de veinte compuestos no cancerígenos. Todos los compuestos eran aminas aromáticas.

En esta memoria se han elegido para su estudio electroquímico las siguientes tres diaminas aromáticas:

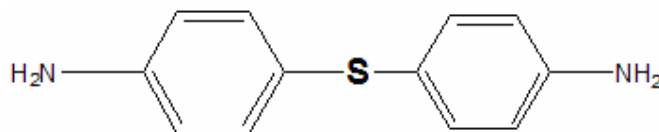
a) 4-4' diaminodifenilamina (DADPA), también llamada 1.4-benzendiamina, cuya fórmula desarrollada es:



b) 4-4'-oxidianilina (ODA), también llamada benzenamina o 4-4'-diaminodifenil éter de fórmula desarrollada:



c) 4,4'-tiodianilina (TDA), también conocida como 4,4'-diaminodifenil sulfuro (TDA), de fórmula desarrollada:





Realizando un estudio pormenorizado de la bibliografía existente, podemos reunir los siguientes aspectos que pueden ser de utilidad para nuestros estudios.

La DADPA es una amina aromática de aplicación industrial (1), aunque también se han encontrado casos de exposición en humanos mediante el empleo de tintes para el cabello, o por vía digestiva a través de un colorante alimenticio conocido como amarillo de metilo, siendo éste un metabolito azo reductor. Muchos estudios advierten acerca del peligro a su exposición.

La cinética de la oxidación de la p-aminodifenildiamina con el ión peroxidosulfato (2) ha sido estudiada espectrofotométricamente. Su oxidación viene acompañada de un color rojo vivo que evoluciona hasta su desaparición. El progreso de la reacción ha sido medido con la técnica de "stopped-flow" acoplada a un espectrofotómetro UV, observándose que la cinética de la reacción global fue de segundo orden, mientras que para cada uno de los reactivos fue de primer orden. También ha podido comprobarse que las micelas catiónicas mejoran el curso de la reacción mediante su inhibición a altas concentraciones; lo contrario sucede con las micelas aniónicas, las cuales tienen un claro efecto retardante.

Se han llevado a cabo estudios sobre la interacción de la DADPA con células procedentes de la mucosa de las tripas de rata (3), concluyendo que esta amina aromática, en atmósfera oxidativa, evoluciona hasta llegar a quinona en el Ciclo de Krebs empleando una disolución tampón de bio-carbonato a pH 7.4. Esto ocurre en presencia de iones metálicos, los cuales se enlazan con los aminoácidos de las proteínas de las células (47). El complejo formado fue extraído en una columna sephadex-G-100.

De acuerdo con diversos estudios sobre sistemas  $\pi$ -conjugados (5) que contienen átomos de nitrógeno, se llega a la conclusión de que la molécula de DADPA tiene una estructura plana, donde las dos moléculas de 1,4-fenildiamina (PDA) se encuentran unidas a un átomo central de nitrógeno; considerándose como el modelo más simple para dendrímeros extendidos que contienen átomos de nitrógeno enlazantes. Se han estudiado dicaciones de PDA y DADPA para poder clarificar los efectos de la deficiencia de cargas en sistemas  $\pi$ -conjugados sobre los valores de  $\gamma$ , siendo esta variable el ángulo de giro. El valor de  $\gamma$  es susceptible a incrementarse no linealmente mediante el enlace de dos unidades  $\pi$ -conjugadas a través de un átomo de nitrógeno. Se ha encontrado que la introducción de cargas positivas no cambia sólo el signo de  $\gamma$ , sino que incrementa significativamente su magnitud.

Esto lleva a la conclusión de que los dendrímeros extendidos unidos mediante un átomo de nitrógeno presentan altos valores de  $\gamma$  en concordancia con una extensión de la  $\pi$ -conjugación, y que la introducción de cargas positivas provoca cambios drásticos tanto en el valor como en el signo de  $\gamma$ .

También se han llevado a cabo estudios espectrofotométricos con la DADPA (6), con el objeto de poder determinar tanto sus propiedades como el tiempo de resolución en

espectrofotometría de fluorescencia en función de la polaridad del disolvente empleado en cada caso.

Dentro de los estudios espectrofotométricos, se han realizado estudios comparativos de estas moléculas con 4-aminodifenil amina (4-ADA) (8) sobre su comportamiento solvatocrómico y protótrico en función de las distintas polaridades de los disolventes y a varios valores de pH tanto en estado excitados como sin excitar empleando espectros de absorción y de fluorescencia. Se analizaron los cambios observados en las señales, los cuales fueron explicados mediante interacciones de enlaces de hidrógeno. Revelando el estudio protónico que la absorción máxima del monocatión DADPA es roja cuando se vira a la forma neutra y que la fluorescencia de 4-ADA es roja cuando se protona. Mientras que la fluorescencia anormal de la 4-ADA<sup>+</sup> (la molécula se encuentra en estado excitado) es debida a la gran relajación que se produce con el uso del disolvente en medio polar.

Una de las posibles aplicaciones de la DADPA es su empleo en la preparación de polipirometiliimidias resistentes al calor (7), las cuales se obtienen a través de una policondensación en dos etapas de 4,4'-diaminodifenilamina con 4,4'-diamino-N-etildifenilamina y con dianhidrido piromelítico en AcNMe<sub>2</sub>, seguido de una ciclación térmica de ácido poliamido, todo ello a vacío y a altas temperaturas. Llegando a que polímidas basadas en en DADPA poseen buenas propiedades dieléctricas.

También se han realizado algunos estudios sobre sistemas de oxidación-reducción en determinados tipos de difenilaminas (4), entre las cuales se encuentra la molécula que es objeto de estudio en esta tesis. En concreto los estudios llevados a cabo fueron valoraciones potenciométricas, midiéndose los potenciales de transición oxidación-reducción con bromo, yodo, ferrocianuro potásico, sulfato de cerio y ácido ascórbico. Estudiándose en las curvas de absorción obtenidas la reversibilidad del proceso de oxidación-reducción y el efecto de los sustituyentes en los anillos de las bases complementarias; concluyendo que la introducción de grupos nitro en el sistema de la aminodifenilamina produce un incremento del potencial en la transición redox.

Por último también se ha estudiado la reacción del grupo sulfuro con DADPA (10), la cual es particularmente prometedora con un gran número de opciones a través de los estados del sulfuro que son posibles de determinar.

La evidencia electroquímica es la formación de heterociclos de azufre, Tionina, así como su presencia y sus ventajas en las reacciones más destacadas.

Finalmente recordar la legislación vigente de la Comunidad Europea según el decreto emitido en marzo de 2005 (9 y 11) permite una concentración máxima de 4,4'-diaminodifenilamina del 6.0% calculado en radicales libres y del 4.30% cuando se encuentra como tintes de oxidación para el cabello. Estando la DADPA englobada dentro del grupo de los colorantes cíclicos aminados, por lo que su determinación es de gran importancia.

La 4,4'-oxidianilina (ODA) está considerada como un posible agente cancerígeno en humanos como resultado de los estudios realizados en animales (12, 13, 14). Pero no se dispone de datos acerca de su cancerogenicidad en humanos (14).

La 4,4'-oxidianilina (ODA) es una dianilina cristalina, no inflamable, incoloro e inodoro. Es insoluble en agua, benceno, tetracloruro de carbono y etanol; pero si es soluble en metanol y acetona.

Es sensible al aire y a la luz, e incompatible con oxidantes. Cuando se descompone por efecto del calor emite vapores tóxicos de óxidos de nitrógeno (14 15).

El uso principal de la 4,4'-oxidianilina es la producción de poliimidas y resina de poli(éster)imidas (13). Utilizándose estos compuestos en la manufactura de productos resistentes a la temperatura como pueden ser esmaltes para alambres, revestimientos, films, adhesivos, barnices aislantes, telas revestidas, fibras que retardan la formación de llamas, aceites sellantes, aislantes para cables, circuitos impresos y laminados; y componentes para vehículos aeroespaciales (15).

También se utiliza como intermedio en la manufactura de resinas epoxi y en la producción de poliéter imidas aromáticas.

Otro uso es como colorante y pigmento en la tintura, tratamiento y fabricación de productos de piel.

La bibliografía consultada nos indica que no existe ninguna publicación en la que se hayan realizado estudios electroquímicos ni electro-analíticos de dicho compuesto. En cambio si se han encontrado trabajos en los que se ha utilizado la ODA como reactivo en análisis cualitativo, siendo determinada principalmente por cromatografía, tanto de gases, como por HPLC con distintos tipos de detectores; especialmente mediante GC/MS (27, 30)

La 4,4'-oxidianilinas (16, 17) ha sido utilizada como reactivo en el análisis cualitativo de aldehidos aromático y alifáticos en medio ácido fórmico para producir azometinos coloreados. EL color es característico del tipo de aldehido, usándose este tipo de reacciones para identificar uno o varios aldehidos, esta reactividad hace que sea utilizada industrialmente. También ha sido identificada en muestras de piel teñida, fibras textiles y papel (18), mediante tintes azoicos y anclaje azoico.

Cuantitativamente, la 4,4'-oxidianilina ha sido determinada colorimétricamente (20, 21) aprovechando su coloración en medio ácido fórmico (formando azometinos del ácido fórmico); cromatográficamente con detección potenciométrica (22) con ácido perclórico Y mediante cromatografía de gases en aguas procedentes de la preparación de fibras de poliamidas (23) y mediante el empleo de sensores de pH (24).

Otros autores (26) han establecido un método para la determinación de arilaminas en pieles teñidas con tintes azoicos, obteniéndose un rendimiento de aproximadamente el 90% de aminos presentes en el cuero. Se ha realizado también un estudio comparativo de este método con el indicado en la legislación alemana para este compuesto, obteniendo resultados muy similares para ambos métodos.

La 4,4'-tiodianilina o 4,4'-diaminodifenil sulfuro (TDA) es un compuesto potencialmente cancerígeno que se encuentra presente en aguas residuales procedentes del proceso de fabricación de papel de las industrias papeleras y también en las aguas residuales de industrias textiles. La TDA pasa al medio ambiente como residuo disuelto en agua.

Se han llevado a cabo distintos análisis, con el objeto de determinar aminas aromáticas en muestras reales que se emplean de manera cotidiana, como las que se suelen formar después de la reducción de los colorantes azoicos encontrados frecuentemente en juguetes (35).

Con este fin se empleó ditionato sódico en la reducción del grupo azo de los tintes y las aminas obtenidas se midieron mediante HPLC con un detector UV.

La influencia de diferentes variables en el proceso de reducción fue estudiada mediante el empleo de un diseño factorial que comprendía todos los niveles de las variables, parámetros e interacciones de interés; obteniéndose distintos perfiles de reducción para cada uno de los tintes, los cuales fueron estudiados a través de las cantidades de aminas obtenidas con diferencias en la relación ditionato/radio del colorante.

Con este estudio se produjo la detección de las aminas aromáticas esperadas, así como la presencia del grupo nitro. Determinándose la producción total del proceso de reducción mediante el uso de adición estándar para distintas cantidades de aminas en los colorantes.

La determinación de aminas aromáticas también puede ser llevada a cabo espectrofotométricamente con un detector UV y por HPLC empleando un detector DAD. El cual está basado en la formación de tintes azoicos procedentes de aminas y midiendo la absorbancia con un espectrofotómetro Diodo-Array.

En la determinación de aminas aromáticas cancerígenas presentes en pieles teñidas o en todas las demás prendas de vestir (43,44), el método indicado por la Comunidad Europea es el Método Alemán, empleando como estándares DIN 53316 Y UNI A9000280. Incluyendo ambos métodos tres etapas: reducción con ditionato sódico, extracción y análisis cromatográfico por HPLC con detector DAD.

La etiqueta ecológica de la Comunidad Europea permite el uso de o-anisidina y p-aminobenceno en la manufactura del calzado.

Según la resolución de la Comisión Europea de 18 de marzo de 2002 y recogido en el Diario Oficial de las Comunidades Europeas (34) y el Boletín Oficial de Estado (BOE) del Miércoles 2 de Abril de 2003 (33) los tintes azoicos que mediante fragmentación reductora de uno o más grupos azoicos puedan liberar una o más aminas aromáticas prohibidas, (recogidas en la Tabla I), en cantidades detectables (superiores a 30ppm) en todos los artículos textiles o en las partes teñidas de los mismos; no podrán utilizarse en artículos textiles, ni en artículos de cuero que puedan entrar en contacto directo y prolongado con la piel humana o la cavidad bucal, tales como: prendas de vestir, ropa de cama, pelucas, pañales, calzado, bolsos, fundas para sillas, juguetes de tejido o cuero, etc.

Así mismo, los artículos textiles y de cuero a que se refiere el punto anterior no podrán ser puestos en el mercado si no son conformes a los requisitos previstos anteriormente.

La presente orden no les será de aplicación a los productos textiles fabricados con fibras recicladas si las aminas son liberadas por residuos procedentes del teñido anterior de las mismas fibras y si las aminas enumeradas son liberadas en concentraciones inferiores a 70ppm.

Cioni, F.; Bartolucci, G. y otros (43) han descrito un nuevo método para detectar, cuantificar y extraer diaminas presentes en los tintes azoicos. La determinación fue llevada a cabo mediante GC/MS. Otros trabajos (30) también nos indican el uso de métodos cromatográficos pero empleando otros detectores (29); o un método de multi-analitos sin pretratamiento con LC-ESI-MS/MS de fase reversa que posibilita la determinación de gran número de aminas aromáticas (PAA) asociadas a la producción de polímidas o azocolorantes.

Otro estudio acerca de la cancerogenicidad de diaminas aromáticas fue realizado mediante el enlace de estos bicíclicos con la hemoglobina (Hb). (27) Comprobándose que la 4,4'-tiodianilina; la 4,4'-oxidianilina y la 4,4'-metilendiamina se unen a la hemoglobina como diamina y como monoacetildiamina. Incrementándose la extensión del enlace de la Hb con los bicíclicos en función de la potencia cancerogénica de la molécula.

Una gran mayoría de los procedimientos, descritos anteriormente, si bien son efectivos e incuestionables, son difíciles de llevar a cabo por la instrumentación utilizada; ya que solo se encuentra disponible en laboratorios muy especializados. Por ello nos proponemos en esta memoria desarrollar metodologías sencillas y baratas que puedan ser utilizadas en cualquier laboratorio.

Se pretende la determinación rápida y sencilla de la 4,4'-tiodianilina, 4,4'-oxidianilina y 4,4'-diaminodifenil amina mediante la utilización de un electrodo de oro sin modificar su superficie y modificándola con dos compuestos modificadores, los cuales poseen propiedades acumulativas de la sustancia a determinar en las proximidades de la superficie del electrodo, con el objetivo de facilitar la quimisorción y la oxidación de la especie. Los modificadores empleados son di-n-octadecildisulfuro y 1-octanotiol.

La 4,4'-tiodianilina tiene propiedades que pueden resultar interesantes en el desarrollo de esta metodología; por una parte es capaz de acumularse en la superficie del electrodo a través del átomo de azufre, además este compuesto posee grupos amino que son fácilmente oxidables. La TDA, ODA y DADPA pueden ser acumuladas en sustancias apolares como son di-n-octadecildisulfuro y 1-octanotiol, lo cual es de gran utilidad para realizar su separación de otros compuestos más polares mediante un proceso similar a la cromatografía de fase inversa.

La modificación de la superficie del electrodo ocurre mediante un proceso de quimiadsorción, formándose canales de acceso restringido hacia la superficie de intercambio electrolítico. Por lo que la oxidación electroquímica de la 4,4'-tiodianilina y de

las otros diamainas en estudio (DADPA y ODA) puede ocurrir directamente sobre la superficie del electrodo, o a través de los canales formados por los modificadores superando la barrera energética de las moléculas acumuladas en el modificador.

**Tabla I (32)**

<b>Nº CAS</b>	<b>Nº Unión Europea</b>	<b>Nombre</b>	<b>Sinónimo</b>	<b>Clasificación CE 76/769</b>	<b>Nº Alemania</b>
92-67-1	202-177-1	4-amino difenil y sales		Cancerígeno Cat. 1	1
92-87-5	202-199-1	4,4'-diamino difenil y sales	Bencidina y sales	Cancerígeno Cat. 1	2
95-69-2	202-441-6	4-cloro 2-metilnilina	4-cloro-o-toluidina	IARC 2A**	3
91-59-8	202-080-4	2-naftilamina y sales		Cancerígeno Cat. 1	4
106-47-8	203-401-0	4-cloro anilina	p-cloroanilina	IARC 2B**	5
615-05-4	210-406-1	4-metoxi 1,3-fenilén diamina	2,4-diaminoanisol	IARC 2B**	6
101-77-9	202-974-4	4,4'-diaminodifenil metano		Cancerígeno Cat. 2	7
91-94-1	202-109-0	3,3'-dicloro bencidina		Cancerígeno Cat. 2	8
119-90-4	204-355-4	3,3'-dimetoxi bencidina	o-dianisidina y sales	Cancerígeno Cat. 2	9
119-93-7	204-358-0	3,3'-dimetil bencidina	4,4'-bi-o-toluidina	Cancerígeno Cat. 2	10
838-88-0	212-658-8	3,3'-dimetil 4,4'-diaminofenilmetano	4,4'-metilén di-o-toluidina	Cancerígeno Cat. 2	11
120-71-8	204-419-1	2-metoxi 5-metilnilina	p-cresidina	IARC 2B**	12
101-14-4	202-918-9	4,4'-metilén bis-(2-cloroanilina)	2,2'-dicloro 4,4'-metiléndianilina	Cancerígeno Cat. 2	13
101-80-4	202-977-0	4,4'-diaminodifenil éter	4,4'-oxidianilina		14
139-65-1	202-370-9	4,4'-diaminodifenil sulfuro	4,4'-tiodianilina	IARC 2B**	15
95-53-4	202-429-0	2-aminotolueno	o-toluidina	Cancerígeno Cat. 2	16
95-80-7	202-453-1	2,4-diaminotolueno	2,4-toluen diamina	Cancerígeno Cat. 2	17
137-17-7	205-282-0	2,4,5-trimetilnilina			18
97-56-3	202-591-2	4-amino 2',3-dimetil azobenceno	o-amino azotolueno	Cancerígeno Cat. 2	F
60-09-3	200-453-6	4-aminoazobenceno		Cancerígeno Cat. 2	F
90-04-0	201-963-1	o-anisidina	2-metoxianilina	Cancerígeno Cat. 2	F
9955-8	202-765-8	2-amino-4-nitrotolueno			
92-93-3		4-nitrobifenilo		Cancerígeno Cat. 2	

\*CAS: Chemical Abstract Services

\*\*IARC 2A: probable cancerígeno, 2B: posible cancerígeno

## **Objetivo y plan de trabajo**

Esta memoria tiene como objetivo la puesta a punto de una nueva metodología para la determinación de 4,4'-diaminodifenilamina; 4,4'-oxidianilina y 4,4'-tiodianilina por voltametría de onda cuadrada utilizando un electrodo de oro, sin modificar y modificado con agentes proveedores de propiedades acumulativas de la sustancia a estudiar, como son los tioles  $C_8$  y  $C_{18}$ , rellenos habituales de columnas de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

Una vez estudiados los parámetros químicos e instrumentales de dichas metodologías, se procederá a la determinación del compuesto en aguas residuales procedentes de una industria textil y en tintes para calzado y para el cabello.

Para dicha finalidad se ha seguido el siguiente plan de trabajo:

- Estudio del comportamiento electroquímico de los compuesto por voltametría cíclica y por voltametría de onda cuadrada en el electrodo sin modificar.
- Estudio de las condiciones óptimas de trabajo y obtención de la correspondiente recta de calibrado y cálculo de exactitud y precisión del método.
- Estudio de las condiciones óptimas de modificación del electrodo con los modificantes y sus variables, tanto químicas como instrumentales.
- Obtención de las rectas de calibrado de los dos modificantes y estudio de su exactitud y precisión.
- Aplicación de las condiciones obtenidas a la determinación de la 4,4'-diaminodifenilamina; 4,4'-oxidianilina y 4,4'-tiodianilina en agua residual, tinte para calzado y para cabello.
- Validación de las metodologías mediante la comparación de los resultados con los obtenidos por HPLC.



## **PARTE EXPERIMENTAL**



## **Reactivos**

- 4,4'-diaminodifenilamina, 4,4'-oxidianilina y 4,4'-tiodianilina procedentes de Sigma-Aldrich, a partir de las cuales se prepararon disoluciones stock de 500µg/mL en metanol. El resto de las disoluciones utilizadas se obtuvieron por dilución de la original en el medio tamponado
- Di-n-octadecildisulfuro de Lancaster synthesis (C<sub>18</sub>)
- 1-Octanotiol suministrada por Aldrich,( C<sub>8</sub> )
- Acetonitrilo suministrado por Scharlau
- Tetrahidrofurano, metanol como disolventes; y disoluciones reguladoras
- Las disoluciones reguladoras utilizadas de pH 2, 3, 6, 7, 8, 10 y 11, preparados a partir de ácido fosfórico; las de pH 4 y 5, en medio ácido acético y la de pH 9, en medio ácido bórico. Los valores deseados se ajustan con hidróxido sódico
- Agua ultrapura desionizada mediante el sistema Milli-Ro y Milli-Q (Milli-Pore, Waters)
- Gel colorante permanente Lanofil, colores 1 negro y 6<sub>6</sub> rojo intenso. Aragó, 499, Barcelona, España
- Tinte azul para el calzado (concentrado) T2000 (TEKNO 2000 S.A. , Ctra. Vilafranca a Moja Km. 1 08734 Moja- Olérdola (Barcelona))

Todos los reactivos han sido de calidad reactivo análisis

## **Aparatos**

- Potenciostato Bioanalytical Systems (BAS), modelo Epsilon, acoplado a un ordenador intel incide pentium 4 con sistema operativo windows XP
- Electrodo de Oro suministrado por BAS
- Como contra-electrodo se emplea una espiral de platino
- Electrodo de referencia de Ag/ AgCl (KCl(3M))
- Agitadores magnéticos
- pH-metro METHROHM modelo C831 con electrodo combinado de vidrio y Ag/AgCl (3M))
- Ultratermostato de circulación, FRIGITERM, P-SELECTA, modelo 6001091 (Criostato)
- Cromatógrafo líquido-líquido

Detector electroquímico compuesto de los siguientes módulos:

- Bioanalytical Systems (BAS) solvent delivery system PM-80
- Bioanalytical Systems (BAS), amperometric detector LC-40
- Bioanalytical Systems (BAS), liquid chromatography CC-5

Como detector UV se utilizó:

Perkin Elmer 785A UV/VIS acoplado a la interfase Hercule Lite Chromatography Interface

- Material usual de laboratorio

## Procedimientos

El procedimiento seguido en todos los casos consta de cuatro etapas

- **Activación del electrodo**, en la cual se incluye la limpieza del electrodo cuando se cambian las condiciones de medida o por cualquier causa que modifique la corriente residual (contaminación del electrodo)
- **Modificación del electrodo**
- **Medida**
- **Tratamiento de muestras**

### 1. Limpieza y/o regeneración del electrodo

Esta etapa tiene por objeto eliminar la modificación y/o preparar la superficie del electrodo para la nueva modificación o medida cuando no se modifica. El proceso descrito a continuación se realiza electroquímicamente mediante sucesivos barridos en voltametría cíclica.

El proceso después de realizar una medida con el electrodo modificado o contaminado sin modificar es el siguiente:

En una disolución 0.5M de ácido sulfúrico se realizan sucesivos barridos de potencial en el intervalo comprendido entre 0 y 1.5V, con una velocidad de barrido de 100mV/s hasta la completa activación de la superficie del electrodo.

El proceso se repite hasta alcanzar la corriente residual del electrodo de oro, en el medio en el que se realiza la limpieza y activación (Figura 1).

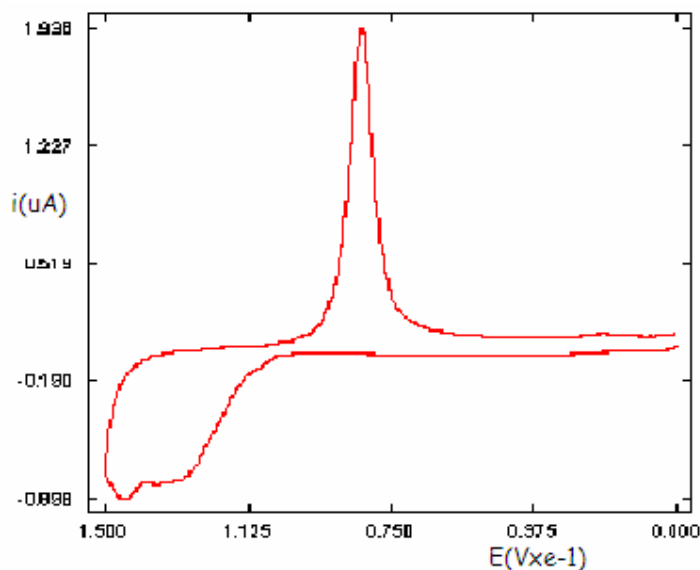


Figura 1

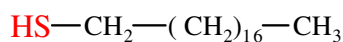
**Voltagrama en voltametría cíclica correspondiente al electrodo de oro limpio en medio ácido sulfúrico 0.5M**

En ocasiones, cuando no se alcanza la corriente residual inicial, también se llevó a cabo la limpieza del electrodo usando *disolución piraña* (ácido sulfúrico/agua oxigenada 8:2) introduciendo el electrodo en dicha disolución, no más de dos minutos. Posteriormente se activa el electrodo de la manera habitual a la descrita anteriormente.

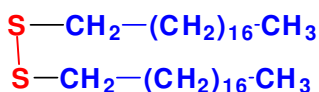
## 2. Modificación del electrodo

Una vez realizada la activación del electrodo se procede a su modificación con  $C_8$  y  $C_{18}$ , disueltos en tetrahidrofurano (THF) a una concentración determinada y durante un periodo de tiempo preestablecido.

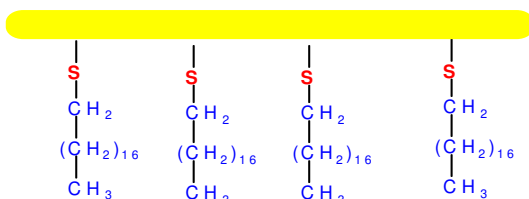
El nombre que empleados en esta memoria para  $C_8$  y  $C_{18}$  es 1-Octanotiol y Di-n-octadecildisulfuro respectivamente. Estando formado, el  $C_8$ , por una cadena alifática de ocho átomos de carbono, encontrándose al final de dicha cadena un grupo tiol.



Mientras el  $C_{18}$  está formado por dos cadenas lineales de dieciocho átomos de carbono cada una, las cuales se unen a través de un grupo disulfuro.



La adsorción sobre la superficie del electrodo de oro se produce mediante quimisorción espontánea a través de los átomos de azufre para ambos modificadores, sufriendo una ruptura en el enlace S-S.



El proceso de modificación consiste en la formación de canales de acceso restringido hacia la superficie del electrodo. Siendo a través de ellos donde ocurre la transferencia de materia hacia el electrodo de las tres moléculas objeto de estudio.

El proceso de modificación consta de las siguientes etapas:

Sumergir el electrodo en la disolución de modificador de concentración elegida, con agitación constante y regular.

Esta disolución de modificador tiene que tener controlada la temperatura (inferior a 10°C), ya que al aumentar la temperatura, la disolución de octanotiol tiende a descomponerse, desprendiéndose de la superficie del electrodo; mientras que a la de di-n-octadecil disulfuro que no le afecta tanto el aumento de la temperatura, pero debe estar controlada para obtener resultados reproducibles.

Transcurrido el tiempo de modificación prefijado, se saca el electrodo de la disolución, se lava con agua destilada y se lleva a la célula de medida, cuya temperatura debe estar controlada (inferior a 20°C).

### 3. Medida

Una vez activado el electrodo y modificado, en los estudios donde se realiza la modificación, se sumerge en la disolución de analito termostatzada, para obtener resultados reproducibles y se procede a la medida electroquímica correspondiente, mediante la aplicación de las variables correspondientes a cada técnica electroquímica.

En el caso de las técnicas de redisolución se utiliza siempre un tiempo de reposo y se impone un potencial de acumulación frente al electrodo de Ag/AgCl (3M).

## **4. Tratamiento de muestras**

### **A. Agua residual**

La muestra de agua residual procedente de una industria textil se almacena en recipientes de vidrio, los cuales permanecieron, previamente, durante una semana, en una disolución de ácido nítrico al 20%. Siendo lavados, a continuación, con metanol y posteriormente, con agua destilada.

Para la utilización de esta agua, es imprescindible, hacer un filtrado previo para, de esta manera, eliminar las posibles partículas en suspensión que pueda haber. Una vez realizado este paso, se toma una alícuota de 2 mL de la muestra y se lleva a 25 mL con el electrolito de medida.

De esta disolución de 25 mL, se toman 10 mL, que se vierten en la célula de medida, para de esta manera realizar las correspondientes medidas con cada una de las moléculas objeto de estudio en esta tesis.

Con esta muestra se va a realizar una medida directa del agua residual para comprobar la existencia de señal electroquímica; y la cuantificación se realiza por el método de adición estándar con cada una de las tres moléculas. Siempre bajo las condiciones de medida que en los estudios previos se consideraron óptimas.

### **B. Tinte para calzado**

Con esta muestra se pretendió determinar únicamente la 4,4'-oxidianilina (ODA), ya que, como se ha dicho en la introducción, una de sus aplicaciones es como pigmento en el tratamiento, tintura y fabricación de productos de piel.

El tratamiento previo que ha recibido esta muestra ha consistido en su homogeneización. Tomándose a continuación 25  $\mu$ L de muestra concentrada, que se llevan a 25 mL con metanol, debido a que es disolvente de la ODA.

De esta última disolución se toman 25  $\mu$ L y se introducen en la célula de medida, donde se encuentra el electrolito soporte.

De esta manera se realizarán los correspondientes estudios a las condiciones óptimas, ya determinadas previamente.

### **C. Tinte para cabello**

En esta tercera aplicación se ha empleado un tinte comercial negro y otro rojo, en los cuales se pretende determinar únicamente la 4,4'-diaminodifenilamina (DADPA).

Los pasos previos que fueron necesarios llevar a cabo antes de poder efectuar las medidas fueron:

En primer lugar, se pesaron aproximadamente 0.5 g de cada tinte por separado, disolviéndolos en acetonitrilo en medio ácido sulfúrico concentrado, hasta un volumen final de 25 mL.

De esta disolución, a continuación, se tomaron 25  $\mu$ L, y se añadieron, como en los casos anteriores, a la célula de medida con electrolito soporte. Para finalmente, realizar las medidas correspondientes bajo las condiciones óptimas, determinadas anteriormente.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**4,4'-diaminodifenilamina**



## **Estudios en electrodo de oro**

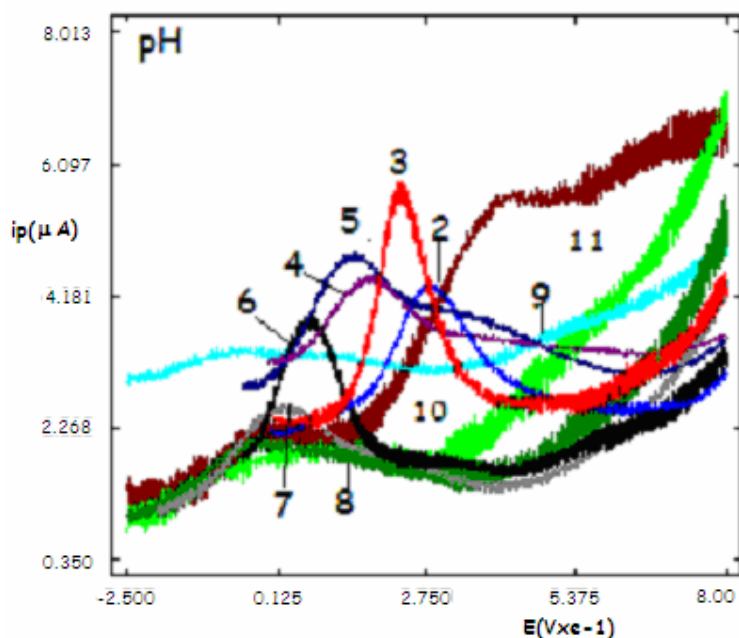
En esta parte de la presente memoria se realizan los estudios electroquímicos básicos con el fin de conocer el comportamiento electroquímico de la 4,4'-diaminodifenil amina (DADPA); para lo cual se van a estudiar aquellos parámetros que puedan proporcionar información acerca de las posibles reacciones Redox que puedan producirse sobre un electrodo de oro.

Debido a que a penas se dispone de datos bibliográficos acerca de este compuesto; en primer lugar se estudiará la variación del potencial al que se oxida la DADPA, para lo cual se hicieron pruebas con una disolución de DADPA a distintos valores de pH, pudiéndose observar el siguiente comportamiento: a pH ácidos el potencial se desplaza a valores más positivos, virando el color de la disolución de incolora a azul, siendo el color más oscuro a medida que se acidifica dicha disolución. Mientras que a pH alcalinos o básicos el potencial de oxidación se desplaza a valores menos positivos y el color de la disolución vira de incoloro a rojo, el cual, se intensifica al aumentar el pH de la disolución, coincidiendo este hecho con los datos bibliográficos disponibles.

## 1.- Influencia del pH

Este estudio se ha realizado dentro de un rango de pH comprendido entre pH 2 y pH 11, y una concentración de 4,4'-diaminodifenilamina de  $1\mu\text{g/mL}$  y fuerza iónica de 0.5M.

En la figura 2 aparecen recogidos los voltagramas en voltametría de onda cuadrada para los distintos pH.



**Figura 2**  
**Influencia del pH**

**Condiciones:** Concentración de DADPA =  $1\mu\text{g/mL}$ ; Fuerza iónica = 0.5M; Tiempo de acumulación = 0s; Potencial de acumulación = 200mV; temperatura =  $10^\circ\text{C}$ ; step = 1mV; Amplitud de impulsos = 20mV; Frecuencia = 200Hz

En la figura 3 se ha representado la variación de la intensidad y del potencial de pico en función de los distintos valores de pH. Encontrándose recogidos los datos correspondientes a este estudio en la tabla (Tabla II).

Como puede verse en las figuras 2 y 3, al aumentar el pH, es decir, a valores de pH básicos, concretamente superiores a pH 7, no se obtiene señal electroquímica definida, y el potencial al que se oxida la DADPA se desplaza hacia valores menos positivos, siendo a pH 3 cuando se obtiene la señal más intensa y mejor definida.

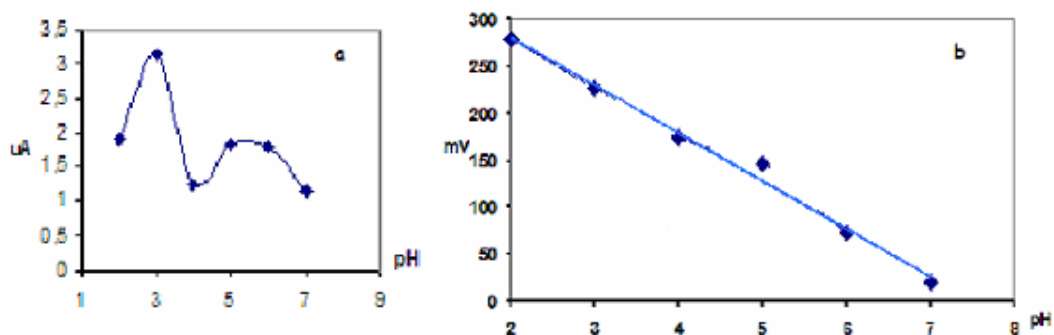


Figura 3

- a) Intensidad de pico frente a pH      b) Potencial de pico frente a pH

Tabla II

pH	$I_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
2	1,89	280
3	3,13	227
4	1,22	174
5	1,82	146
6	1,78	73
7	1,15	20

La figura 3b muestra que la variación del potencial de pico con el pH tiene una tendencia lineal que se ajusta a la siguiente ecuación:

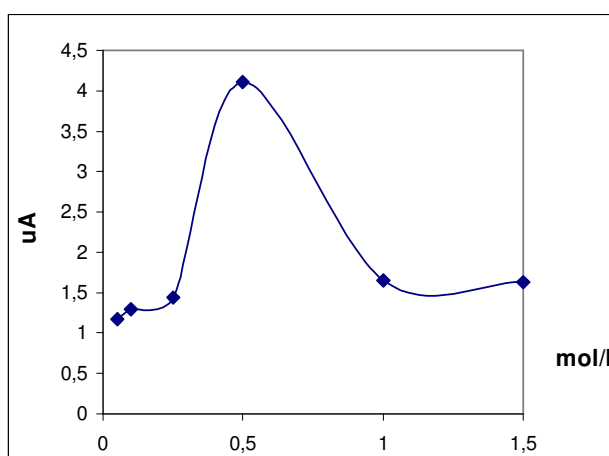
$$E(mV) = -51.14pH + 386.58$$

siendo la pendiente de 51.14 mV, lo que indica que el número de protones y electrones que se intercambian es el mismo.

## 2.- Fuerza iónica

Para el estudio de la influencia de la fuerza iónica, el medio en que se ha llevado a cabo la ha sido tampón fosfato a pH 3 dentro de un rango de concentraciones comprendido entre 0.05 y 1.5 mol/L.

En la figura 4 se puede comparar que es bajo una fuerza iónica de 0.5 mol/L cuando se obtiene la señal más intensa, además de ser la mejor definida y con menor anchura de semionda. Por lo que a partir de ahora todos los estudios se realizarán en tampón fosfato a pH 3 y fuerza iónica 0.5 mol/L.



**Figura 4**

### Variación de la intensidad de onda frente a la fuerza iónica

**Condiciones:** Concentración de DADPA = 1  $\mu$ g/mL; Tiempo de acumulación 0s ; Potencial de acumulación=200mV; temperatura=10  $^{\circ}$ C; Step =1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

En cuanto al potencial de pico a penas sufre variación manteniéndose prácticamente constante. Como se expone en la tabla III.

**Tabla III**

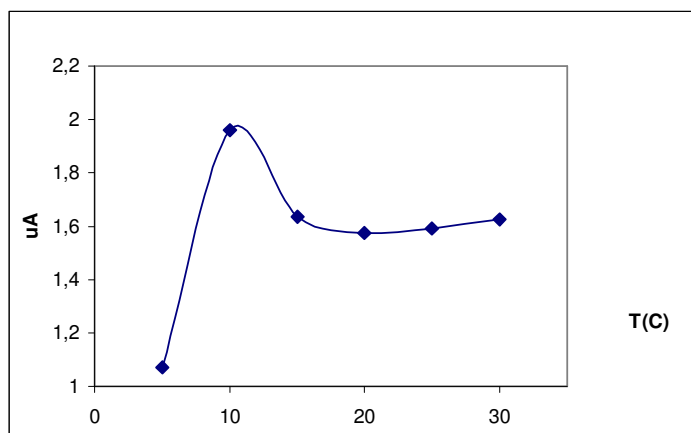
M(mol/L)	Ip(uA)	Ep(mV)
0,05	1,17	398
0,1	1,29	323
0,25	1,44	396
0,5	4,11	373
1,0	1,60	376
1,5	1,64	384

Este comportamiento indica que hay que mantener el pH a un valor de 3, observándose una capacidad de tamponamiento elevada, lo que hace que el sistema se estabilice en el procedimiento de transferencia de electrones.



### 3.- Influencia de la temperatura

Se lleva a cabo un estudio de la influencia de la temperatura con el objetivo de obtener la máxima reproducibilidad en los resultados. Para ello se termostatiza la disolución de DADPA, a distintos valores de temperatura comprendidos entre 5 y 30° C. Obteniéndose los mejores resultados a temperaturas inferiores a 20° C, como puede observarse en la figura 5, manteniéndose prácticamente constante para temperaturas superiores a 20 ° C. Observándose una muy pequeña modificación del potencial de pico, que se puede considerar constante.



**Figura 5**

**Variación de la intensidad de onda frente a la temperatura**

**Condiciones:** pH=3; Concentración de DADPA =1  $\mu$ g/mL; Tiempo de acumulación =0s ; Potencial de acumulación=200mV; Step =1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

#### 4.- Influencia del tiempo de acumulación

Teniendo en cuenta que una de las opciones que presenta la electroquímica es la posibilidad de acumular el analito en la superficie del electrodo, por lo cual se ha realizado un estudio del tiempo de acumulación aplicando un potencial para comparar si el compuesto objeto de estudio se acumula en la superficie del electrodo.

Para ello se mantiene el potencial fijo a un valor, 200mV; y se modifica el tiempo de acumulación manteniendo la disolución siempre bajo una agitación constante.

Los resultados obtenidos se encuentran recogidos en la figura 6 y en la tabla IV.

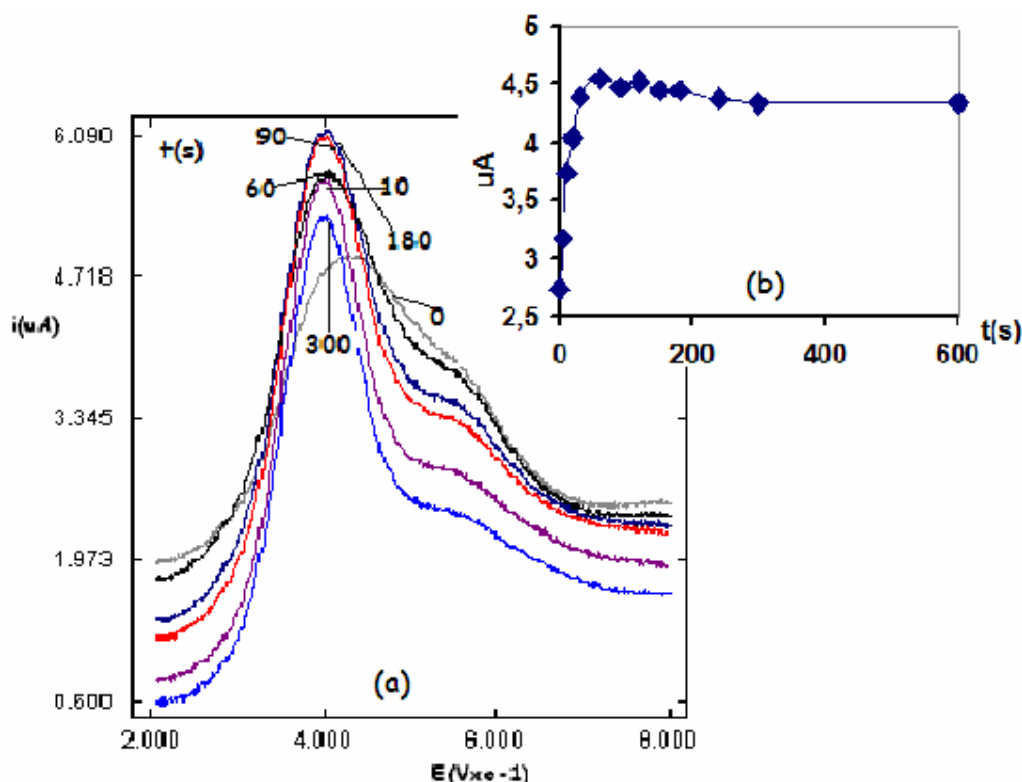


Figura 6

##### Variación de la intensidad de onda frente al tiempo de acumulación

**Condiciones:** pH=3; Concentración de DADPA =1  $\mu$ g/mL; Potencial de acumulación=200mV; temperatura=10 °C ; Step =1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

Puede verse como se produce una adsorción rápida, a tiempos de contacto cortos, menores de 30 segundos; para después entre 60 y 600 segundos las intensidades de pico son prácticamente iguales, lo que es indicativo de la saturación del electrodo, no aumentando la cantidad de materia adsorbida en el electrodo, por lo que adoptaremos 90 segundos como tiempo de acumulación ya que es el que nos proporciona una onda mejor definida.

En la tabla IV se muestran los resultados obtenidos de intensidad y potencial de pico para cada valor de tiempo de acumulación estudiado.

Al comparar los valores de potencial de pico se observa que el valor más elevado se obtiene a un tiempo de acumulación de cero segundos, es decir, sin acumulación; y a medida que aumenta el tiempo de acumulación disminuye el potencial de pico. Lo que indica la existencia de un proceso de adsorción, pues el analito adsorbido no tiene que difundir hacia el electrodo, y como consecuencia disminuye el potencial de pico.

**Tabla IV**

<b>t(s)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>0</b>	2,74	428
<b>5</b>	3,17	404
<b>10</b>	3,74	405
<b>20</b>	4,046	403
<b>30</b>	4,39	401
<b>60</b>	4,55	402
<b>90</b>	4,48	403
<b>120</b>	4,52	402
<b>150</b>	4,45	401
<b>180</b>	4,46	401
<b>240</b>	4,38	402
<b>300</b>	4,34	402
<b>600</b>	4,34	402

## Variables instrumentales

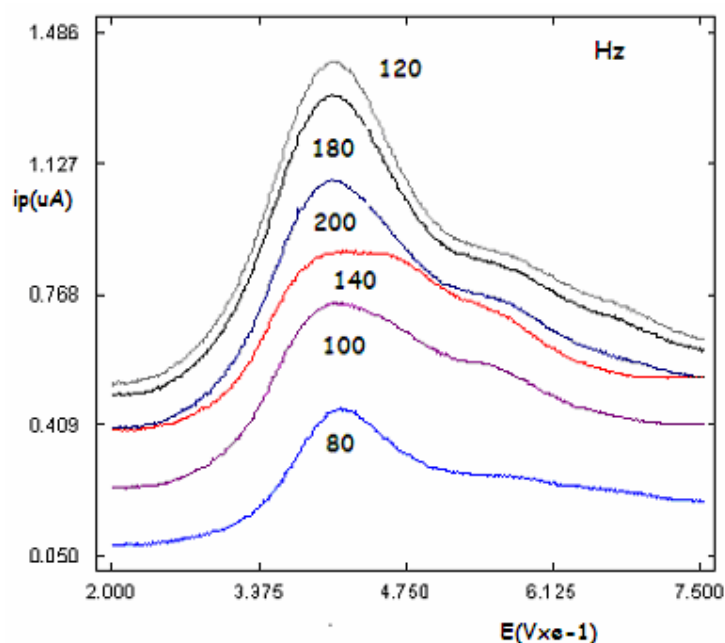
### 5.- Influencia de la frecuencia

Una de las variables instrumentales que caracteriza a la voltametría de onda cuadrada es el estudio de la frecuencia, que junto con la amplitud del escalón (step), marca la velocidad de barrido.

El estudio de las variables instrumentales se ha llevado a cabo en las mejores condiciones halladas en los estudios anteriores:

**Condiciones:** Concentración de DADPA =  $1 \mu\text{g/mL}$ ; pH = 3; Tiempo de acumulación 90s; Potencial de acumulación = 200mV; temperatura =  $10^\circ\text{C}$  Step = 1mV; Amplitud de impulsos = 20mV y modificando la variable estudiada

En la figura 7 se encuentran representados los voltagramas obtenidos a distintos valores de frecuencia.



**Figura 7**  
**Influencia de la frecuencia**

**Condiciones:** Concentración de DADPA =  $1 \mu\text{g/mL}$ ; pH = 3; Tiempo de acumulación 90s; Potencial de acumulación = 200mV; temperatura =  $10^\circ\text{C}$  Step = 1mV; Amplitud de impulsos = 20mV

Los datos obtenidos a partir de los voltagramas de la figura 7 se encuentran recogidos en la tabla V, siendo tratados posteriormente de la siguiente manera:

La figura 8 muestra la variación de las intensidades de pico frente a la frecuencia, siguiendo una tendencia logarítmica, que se ajusta a la ecuación:

$$i_p(\mu A) = 11.24 \log(Hz) - 17.74$$

Tabla V

Hz	$i_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
20	0,64	427
40	0,98	424
60	1,82	411
70	2,61	415
80	3,34	415
100	4,49	406
120	4,28	416
140	6,34	406
160	7,22	408
180	7,91	406
200	8,50	408
250	9,81	408
300	9,36	411

El potencial de pico mantiene el mismo valor al modificar la frecuencia.

La variación lineal de la intensidad de pico con la frecuencia (figura 8) que nos indica que estamos ante un proceso reversible electroquímicamente controlado por adsorción.

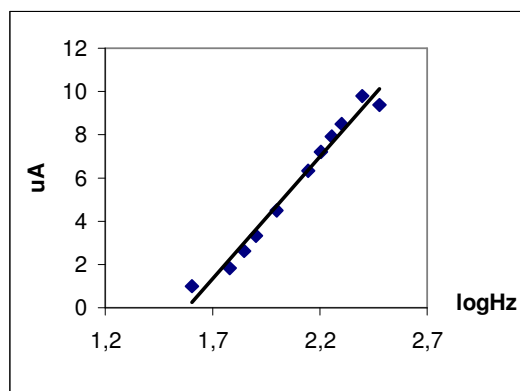


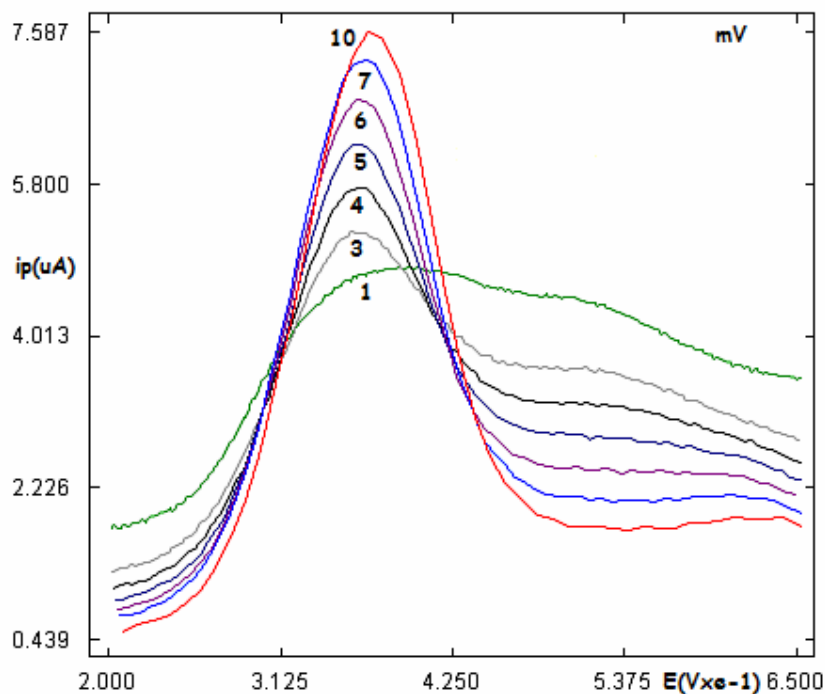
Figura 8

Variación de la intensidad de pico frente a la frecuencia

Como se puede observar en la figura 7, los pico más intensos y estrechos corresponden a los valores de frecuencia de 120 y 200Hz, los cuales tienen unas intensidades muy similares, pero el que posee la onda con la anchura de semionda menor es el que corresponde a la frecuencia de 120Hz, siendo, por tanto, este valor el que elegiremos para estudios posteriores, pues es con el que se alcanza mayor selectividad.

## 6.- Influencia del step (escalón de potencial)

El procedimiento a seguir es el mismo que en el caso de la frecuencia, es decir, se mantienen constantes todas las variables a excepción de la que corresponde al step, el cual se modificará dentro de un rango de valores comprendido entre 1 y 10mV. Estando las condiciones bajo las que se llevó a cabo este estudio señaladas en la figura 9, donde se encuentran representados los voltamperogramas correspondientes a este estudio.

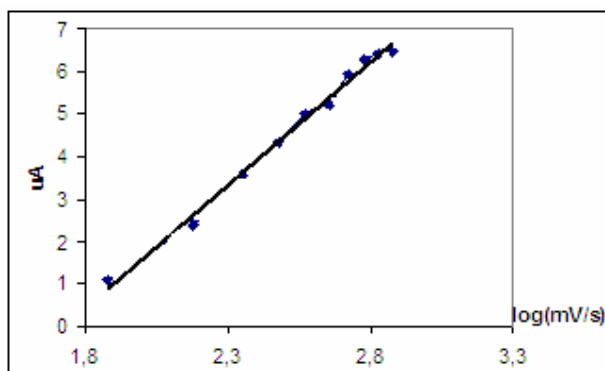


**Figura 9**  
**Influencia del step**

**Condiciones:** Concentración de DADPA =  $1 \mu\text{g/mL}$ ; pH = 3; Tiempo de acumulación 90s; Potencial de acumulación = 200mV; temperatura =  $10^\circ\text{C}$ ; Amplitud de impulsos = 20mV; Frecuencia = 200Hz

En el intervalo estudiado, que corresponde a velocidades de barrido comprendidas entre 200 y 2000mV/s, la diferencia de intensidades se encuentra entre 2,17 y  $6.47 \mu\text{A}$  respectivamente, aumentando considerablemente la anchura de semionda, siendo posible constatar este hecho tanto en las figuras como en la tabla VI.

Si se realiza la representación gráfica de la variación de la intensidad de pico (tabla VI) con respecto a la velocidad de barrido se observa que sigue una tendencia lineal que se ajusta al logaritmo de la velocidad de barrido.



**Figura 10**  
**Variación de la intensidad de pico con la velocidad de barrido**

$$i_p(\mu A) = 5.75 \log(mV/s) - 9.89$$

Mientras que el potencial de pico se mantiene prácticamente constante, encontrándose una ligera variación que se ajusta linealmente a la ecuación:

$$E(mV) = 0.0206v(mV/s) + 355.54$$

**Tabla VI**

Step(mV)	V(mV/s)	Ip(μA)	Ep(mV)
1	75	1,09	419
2	150	2,38	402
3	225	3,54	360
4	300	4,33	364
5	375	5,008	360
6	450	5,19	363
7	525	5,95	368
8	600	6,29	368
9	675	6,43	371
10	750	6,48	370

Estos resultados confirman que el proceso electroquímico es reversible y se encuentra controlado por adsorción.

## 7.- Estudio de la velocidad de barrido en voltametría cíclica

El estudio de la velocidad de barrido se realizó por voltametría cíclica con el propósito de establecer el mecanismo de oxidación de la 4,4'-diaminodifenilamina.

En la figura 12 está representada la comparación de los voltagramas del electrolito soporte y el voltagrama una vez se ha añadido DADPA, obteniendo los picos anódicos y catódicos completamente definidos. Como puede observarse en la figura 12, tanto la onda anódica como la catódica aparecen desdobladas en dos picos, que si se analizan, encontramos que las intensidades de pico anódicas y catódicas son prácticamente iguales; y la diferencia de potenciales anódico y catódicos es de 0.03V, como puede comprobarse en la tabla VII.

$$\text{Anódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0,278 \log v(\text{mV/s}) - 0.27$$

$$\text{Catódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0,169 \log v(\text{mV/s}) + 0.12$$

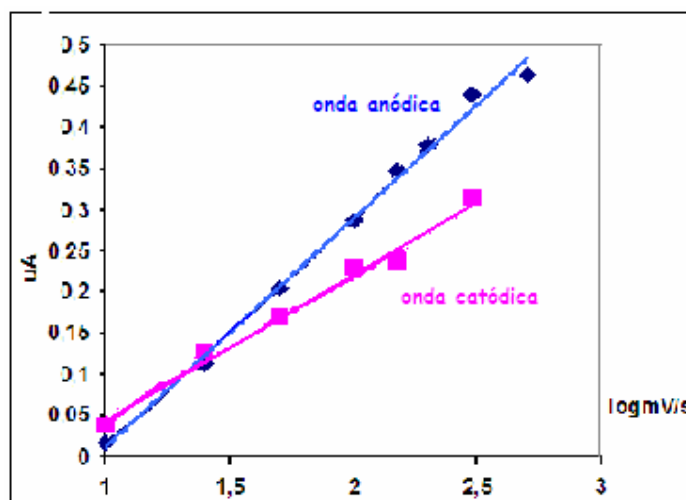
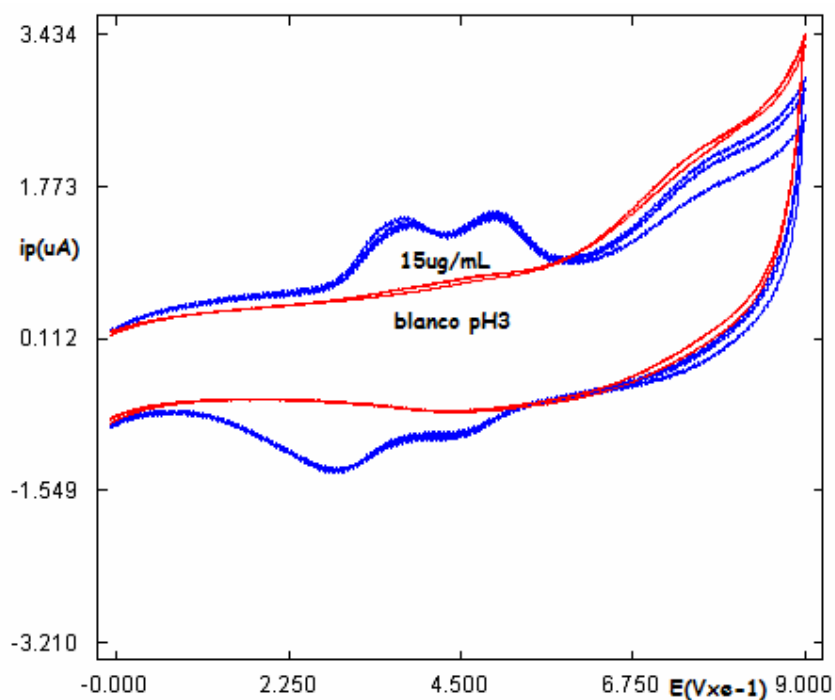


Figura 11

Variación de la intensidad de pico con la velocidad de barrido





**Figura 12**

**Ciclovolatgrama de DADPA a 100mV/s en medio fosfórico.**

**Condiciones:** pH=3, concentración DAPDA=1ug/mL, temperatura=10 °C; potencial inicial=0mV, potencial final=0mV, switching potencial=500mV

**Tabla VII**

onda anódica			onda catódica			E(mV)cat- E(mV)an
mV/s	uA	mV	mV/s	uA	mV	
10	0,02	339	10	0,04	694	0,355
25	0,11	286	25	0,13	706	0,42
50	0,2	281	50	0,17	662	0,381
100	0,29	269	100	0,23	620	0,351
150	0,35	267	150	0,24	720	0,453
200	0,38	264	200	0,24	787	0,523
300	0,44	266	300	0,31	709	0,443
500	0,46	267	482	0,72	788	0,521
800	0,62	274				
1000	0,76	279				

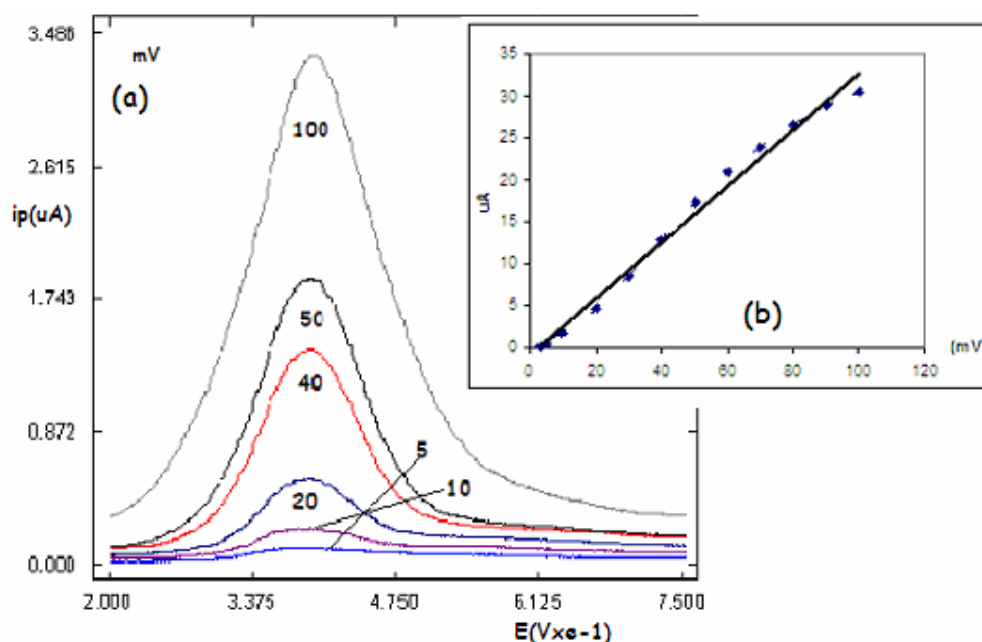
Estos resultados encontrados al variar la velocidad de barrido en voltametría cíclica confirman que el proceso de oxidación electroquímica de la 4,4'-diaminidifenil amina en un electrodo de oro sin modificar es reversible y controlado por adsorción.

## 8.- Influencia de la amplitud de impulsos

El procedimiento que se ha seguido en la realización de este estudio ha sido el mismo que en todos los anteriores, esto es, se mantienen constantes todas las variables a excepción del que es objeto de estudio, en este caso la amplitud de impulsos. Como puede observarse en la figura 13 y en la Tabla VIII donde se encuentran registrados todos los datos correspondientes a este estudio, la intensidad de pico aumenta linealmente según la ecuación:

$$ip(uA)=0.34\Delta E(mV)-0.86$$

manteniéndose el potencial de pico prácticamente constante, mientras que la anchura de semionda aumenta a medida que se incrementa la amplitud de impulsos.



**Figura 13**  
**Influencia de la amplitud de impulsos**

**Condiciones:** Concentración de DADPA =  $1 \mu g/mL$ ; pH = 3; Tiempo de acumulación 90s; Potencial de acumulación = 200mV; temperatura =  $10^\circ C$ ; Step = 1mV; Frecuencia = 200Hz

Para la elección de la amplitud de impulsos de trabajo en los sucesivos estudios y desde el punto de vista analítico, se mantienen como criterios de compromiso; la mayor intensidad de pico y la menor anchura de semipico, con el objetivo de lograr la máxima sensibilidad y selectividad.

Se ha elegido una amplitud de impulsos de 40 mV para posteriores estudios.

**Tabla VIII**

<b>mV</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>3</b>	0,25	390
<b>5</b>	0,60	390
<b>10</b>	1,79	391
<b>20</b>	4,78	392
<b>30</b>	8,53	391
<b>40</b>	12,99	392
<b>50</b>	17,35	393
<b>60</b>	21,084	392
<b>70</b>	23,96	394
<b>80</b>	26,54	394
<b>90</b>	28,84	395
<b>100</b>	30,54	395
<b>150</b>	32,40	404
<b>200</b>	28,56	446
<b>250</b>	13,47	482

## 9.- Influencia de la concentración

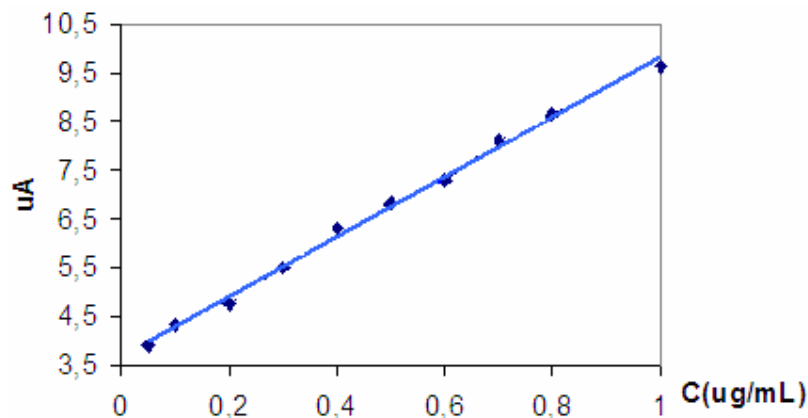
La realización de los estudios previos de las variables químicas e instrumentales tuvo como finalidad la obtención de las condiciones óptimas encaminadas a la obtención de un procedimiento para la determinación de la 4,4'-diaminodifenilamina (DADPA), siendo dichas condiciones:

**pH =3; tiempo de acumulación =90sTiempo de reposo = 10s;**  
**Temperatura =10 °C; Fuerza iónica =0.5M; Potencial de acumulación =200mV;**  
**Potencial inicial =200mV;Potencial final =800 mV; Step =3mV; Amplitud de**  
**impulsos = 40mV; Frecuencia =200Hz**

Bajo estas condiciones se realizó el estudio de la influencia de la concentración de analito, DADPA, observándose al representar gráficamente la intensidad de pico con respecto la concentración de DADPA (fig. 14) que sigue una tendencia lineal ajustándose a la ecuación:

$$I_p(\mu A)=6,14C(\mu g/mL)+3,68$$

$$R^2=0.996$$



**Figura 14**  
**Variación de la intensidad frente a la concentración de DADPA**

Los resultados se encuentran recogidos en la tabla IX.

**Tabla IX**

<b>C(ug/mL)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>0,05</b>	3,91	464
<b>0,1</b>	3,88	449
<b>0,2</b>	4,27	422
<b>0,3</b>	5,92	401
<b>0,4</b>	7,77	401
<b>0,5</b>	8,041	401
<b>0,6</b>	8,099	401
<b>0,7</b>	8,12	404
<b>0,8</b>	8,41	401
<b>0,9</b>	8,45	404
<b>1,0</b>	8,64	404
<b>1,5</b>	7,11	395
<b>2,0</b>	7,32	401
<b>2,5</b>	7,51	398
<b>3,0</b>	7,75	398
<b>3,5</b>	7,99	398
<b>4,0</b>	8,27	398
<b>4,5</b>	8,59	401
<b>5,0</b>	8,83	395

Realizados los estudios estadísticos con tres disoluciones de concentraciones distintas (0.1; 0.5 y 0.8  $\mu\text{g/mL}$ ) y diez medidas con cada disolución se obtuvo que estos valores tienen una exactitud de 0.021 % (error relativo) y una precisión de 3.2% (desviación estándar relativa). Y que los límites de detección y determinación son 0.044 y 0.38 $\mu\text{g/mL}$  respectivamente, viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.



## **Estudios con el electrodo de oro modificado**





## **Estudios con el electrodo modificado con C18**

Uno de los objetivos del presente trabajo es dotar a la superficie del electrodo de propiedades específicas a través de su modificación.

En trabajos anteriores se ha demostrado que es posible trasladar a la superficie del electrodo las propiedades de los rellenos cromatográficos C<sub>8</sub> y C<sub>18</sub> bajo una doble acción.

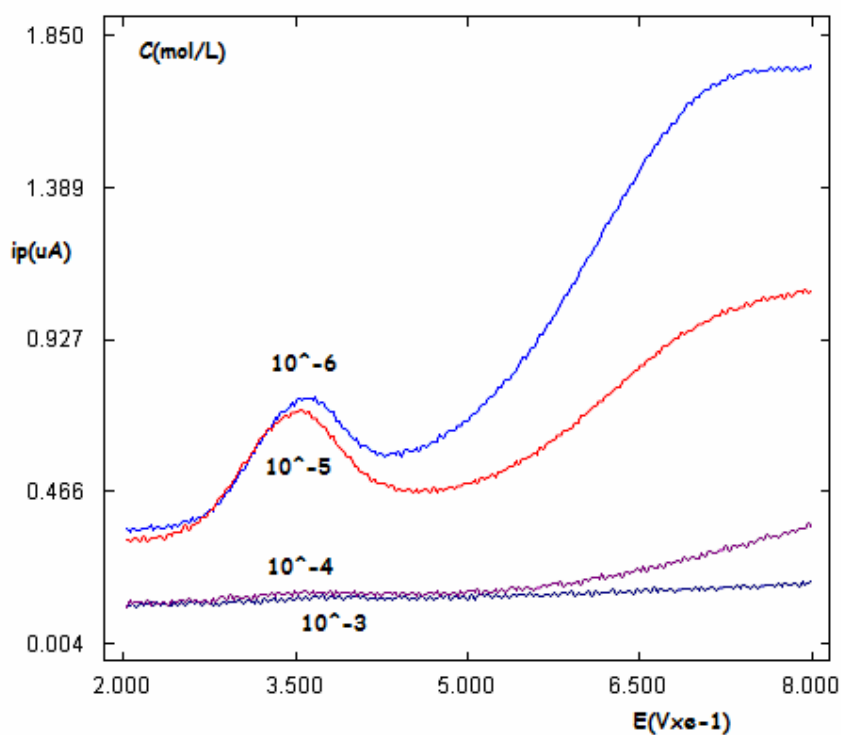
- Construcción de canales por los que llega la especie electroactiva y la interacción con el modificador al igual que ocurre en las columnas cromatográficas. Estos dos factores modifican las condiciones de cinética electroquímica de las especies electroactivas, mejorando casi siempre la selectividad.

A continuación se exponen los resultados obtenidos cuando el electrodo se modifica con di-n-octadecildisulfuro, estudiándose tanto las variables químicas como instrumentales.

## 1.- Influencia de la concentración de modificador.

En la modificación del electrodo de oro con di-n-octadecildisulfuro ( $C_{18}$ ), el primer estudio que se realizará será la influencia que ejerce la concentración de modificador sobre la superficie electroactiva del electrodo, para estudiar cómo influye en la oxidación electroquímica de la 4,4'-diaminodifenilamina.

El objeto que se persigue con la modificación es crear unos canales de acceso restringido a la superficie activa del electrodo y como resultado, el tamaño de dichos canales dependerá de las moléculas que se absorban; por tanto tendremos una barrera física, que impide la libre llegada del analito hacia la superficie del electrodo, así como una disminución de la superficie electroactiva de dicho electrodo pudiendo observarse una variación para la oxidación electroquímica de la 4,4'-diaminodifenilamina en la superficie del electrodo. El rango de concentraciones de modificador con que se ha efectuado este estudio se encuentra comprendido entre  $10^{-3}$  y  $10^{-6}$  mol/L.



**Figura 15**  
**Influencia de la concentración del modificador**

**Condiciones:** pH=3, Concentración de DADPA =  $1\mu\text{g/mL}$ , Tiempo de modificación = 5min, Tiempo de acumulación 90s, Potencial de acumulación=200mV; temperatura=10 °C ; Step =3mV, Amplitud de impulsos =40mV, Frecuencia =120Hz

En la figura 15, se recogen los voltagramas obtenidos en tetrahidrofurano (THF) y un tiempo de contacto del electrodo con la disolución de cinco minutos, deduciéndose de ellos que la concentración más adecuada de Di-n-octadecil disulfuro, es de  $10^{-5}$  mol/L, ya que es la que nos proporciona la señal mejor definida y con la menor anchura de semionda. Cuando se emplean las concentraciones de  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  no se obtiene señal, posiblemente por el completo cubrimiento de la superficie del electrodo impidiendo de esta manera el acceso de la DADPA a la superficie de éste para su oxidación; como puede verse en la representación gráfica de la intensidad de pico frente a la concentración de modificador (figura 16) y en la tabla X donde aparecen recogidos los datos correspondientes a este estudio.

En cuanto a cómo varía el potencial de pico al variar la concentración de modificador, se puede observar en la figura 15, donde aparecen recogidos los voltagramas relativos a este estudio y en la tabla de datos, el potencial se mantiene prácticamente constante, menos para las concentraciones de  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  M, que no se obtiene señal.

Es decir que bajo una concentración de modificador de  $10^{-5}$  mol/L se obtienen los canales de acceso restringido hacia la superficie del electrodo más adecuado para el acceso de la DADPA hacia la superficie activa del electrodo y la posterior oxidación electroquímica de la molécula estudiada y que la modificación que se produce es inferior a la que se logra con C8, como es posible comprobar en estudios posteriores.

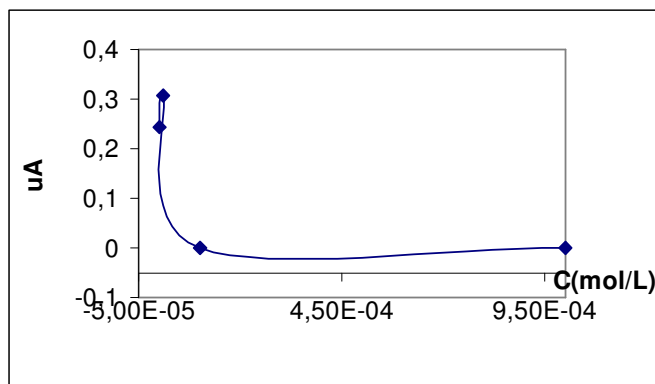


Figura 16

Variación de la intensidad frente a la concentración de modificador

Tabla X

C(mol/L)	Ip(uA)	Ep(mV)
0,000001	0,24	368
0,00001	0,31	356
0,0001	0	0
0,001	0	0

## 2.- Influencia del tiempo de modificación

A través de este estudio se lleva a cabo la determinación del periodo de tiempo más adecuado durante el cual tienen que estar en contacto la disolución de modificador con el electrodo de trabajo, en este caso de oro.

La figura 17, muestra los voltagramas obtenidos en este estudio, así como la tabla de datos (Tabla XI), donde se encuentra recogida la variación de la intensidad y el potencial de pico respecto al tiempo de modificación expresado en minutos

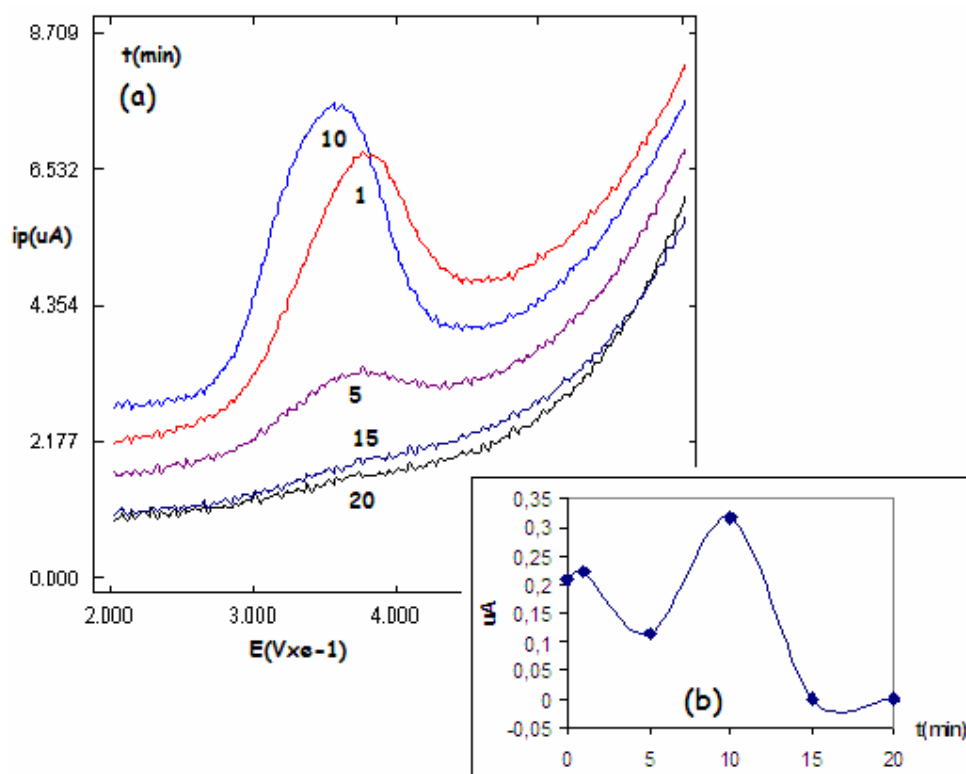


Figura 17

### Influencia del tiempo de acumulación

**Condiciones:** pH=3; Concentración de DADPA=1μg/mL, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de acumulación 90s, Potencial de acumulación = 200mV; temperatura =10 °C; Step =3mV, Amplitud de impulsos =40mV, Frecuencia =120Hz

Al observar la variación de la intensidad de pico con respecto al tiempo de modificación (Fig 17 a) se pone de manifiesto que la molécula cuyo comportamiento electroquímico se estudia llega a la superficie electroactiva del electrodo de oro. Este proceso ocurre a través de los canales de acceso restringido hacia la superficie del electrodo que ha producido el modificador al depositarse en la superficie del electrodo.

Cuando el tiempo de modificación sobrepasa los diez minutos, se produce una considerable disminución en la intensidad de pico, como puede verse en la figura 17 b, lo que posiblemente sea debido a que disminuye la superficie activa del electrodo por aumento de las moléculas de modificador depositadas en la superficie del electrodo,

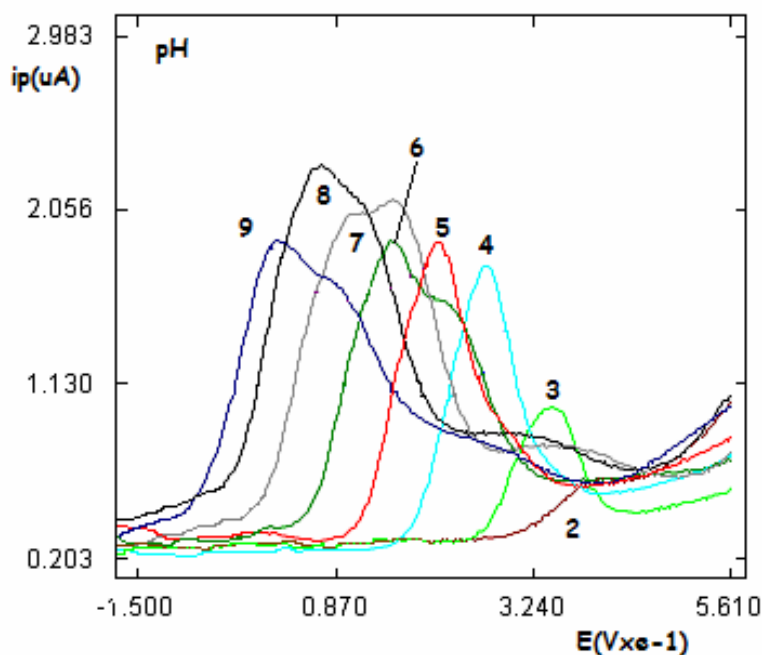
saturándose o tapando completamente la superficie activa del electrodo. La reacción electroquímica observada puede deberse a las moléculas retenidas por el modificador y que se encuentran en las proximidades de la zona de intercambio del electrodo. Este intercambio electrónico posiblemente sea debido a un efecto tunel.

**Tabla XI**

<b>t(min)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>0</b>	0,53	374
<b>1</b>	0,22	365
<b>5</b>	0,11	370
<b>10</b>	0,32	377
<b>15</b>	0	0
<b>20</b>	0	0

### 3.- Influencia del pH

Se ha procedido a la realización de este estudio dentro de un rango de pH comprendido entre pH 2 y 11. En la figura 18, se encuentran representados los voltogramas obtenidos por voltametría de onda cuadrada, observándose que al aumentar el pH disminuye el potencial de pico. Hecho similar al mismo estudio realizado con el electrodo sin modificar.



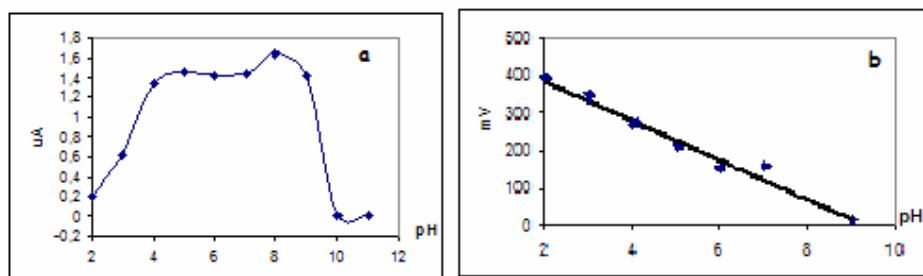
**Figura 18**  
**Influencia del pH**

**Condiciones:** Concentración de DADPA =  $1\mu\text{g/mL}$ , Concentración de C18 =  $10^{-5}\text{M}$ , Tiempo de modificación = 10 min, Tiempo de acumulación = 90s, Potencial de acumulación = 200mV; temperatura =  $10^\circ\text{C}$ ; Step = 3mV, Amplitud de impulsos = 40mV, Frecuencia = 120Hz

En la figura 18 se encuentran las ondas claramente definidas, destacando entre todas ellas, desde el punto de vista analítico, la obtenida a pH 5, que aún no siendo la más intensa, es la mejor definida por su menor anchura de semipico.

En las siguientes figuras (Figuras 19 a y 19 b) se puede ver como varían tanto la intensidad como el potencial para los diferentes valores de pH; representando el potencial de pico frente al pH (figura 19b) se comprueba que se ajusta a la ecuación

$$E(\text{mV}) = -44,612 \text{ pH} + 447,55$$



**Figura 19**

a) Intensidad de pico frente a pH

b) Potencial de pico frente a pH

Los datos correspondientes a este estudio se encuentran registrados en la siguiente tabla:

**Tabla XII**

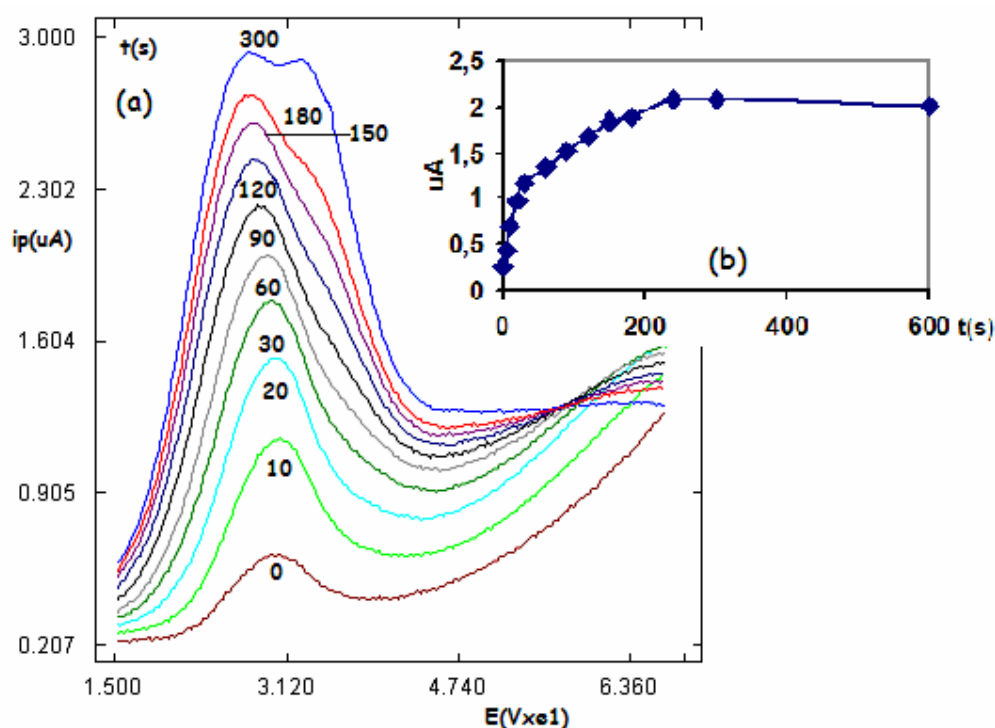
pH	$I_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
2		
3	0,63	347
4	1,34	268
5	1,46	210
6	1,42	153
7	1,45	156
8	1,64	70
9	1,43	17
11	0,21	-5

A la vista de los resultados obtenidos, elegiremos pH 5 como pH de trabajo adecuado, por lo que a partir de ahora en todos los estudios se empleará este pH.

#### 4.- Tiempo de acumulación

Mediante este estudio se pretende conseguir aumentar la sensibilidad y así poder determinar el compuesto objeto de este trabajo en concentraciones más bajas. Para ello se mantiene el potencial a un valor fijo de 200mV, que es el valor más adecuado, habiéndose estudiado en un intervalo comprendido entre 0 y 500mV, así como el resto de las variables, tanto químicas como instrumentales, y se modifica el tiempo de acumulación, manteniendo siempre la disolución con una agitación constante.

En la figura 20 aparecen los voltagramas obtenidos, así como la representación gráfica de la variación de la intensidad de pico con respecto al tiempo de acumulación expresado en segundos. Se puede ver que el mejor tiempo de acumulación es 300 segundos, ya que es al que se obtiene el pico más intenso y además es al que se observa el desdoblamiento de la onda en dos picos.



**Figura 20**

**Variación de la intensidad de onda frente al tiempo de acumulación**

**Condiciones:** pH=5; Concentración de DADPA =1μg/mL, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación=10 min, Potencial de acumulación=200mV; temperatura=10 °C Step =3mV, Amplitud de impulsos =40mV, Frecuencia =120HZ

Se puede comprobar tanto en la figura 20 como en la tabla XIII, que para tiempos de acumulación comprendidos entre 240 y 600 segundos las intensidades son prácticamente iguales, lo que es indicativo de la saturación del electrodo, por lo que se adopta 300 segundos como tiempo de acumulación óptimo.



**Tabla XIII**

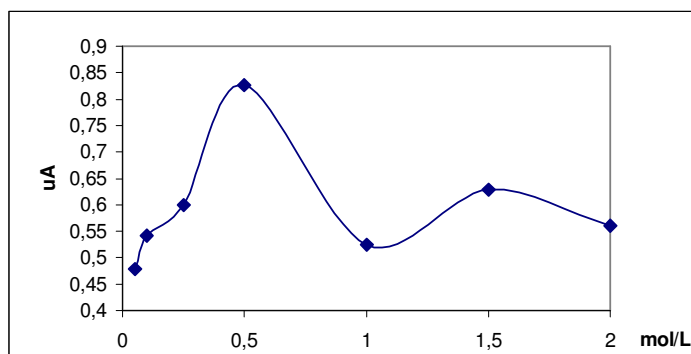
<b>t(s)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>0</b>	0,27	306
<b>5</b>	0,44	309
<b>10</b>	0,69	306
<b>20</b>	0,98	303
<b>30</b>	1,18	297
<b>60</b>	1,34	294
<b>90</b>	1,53	285
<b>120</b>	1,68	279
<b>150</b>	1,84	285
<b>180</b>	1,89	273
<b>240</b>	2,081	279
<b>300</b>	2,091	276
<b>600</b>	2,014	330

Si se comparan las propiedades adsorptivas del compuesto en el electrodo sin modificar y modificado, se puede deducir que la modificación del electrodo cambia notablemente la curva de adsorción de la DADPA, debido a las propiedades que se incorporan al estar el  $C_8$  presente en la superficie del electrodo. La capacidad de adsorción se va incrementando con el tiempo hasta un tiempo de acumulación de doscientoscurenta segundos manteniendo, la capacidad adsorptiva se mantiene constante para tiempos superiores.

## 5.- Influencia de la fuerza iónica

El medio en que se ha efectuado el estudio de la influencia de la fuerza iónica ha sido tampón acético/acetato a pH 5, dentro de un rango de concentraciones comprendido entre 0.05 y 1.5 mol/L.

En la figura 21 se encuentra representada la variación de la intensidad de pico respecto a la fuerza iónica. Se puede observar que la señal más intensa y mejor definida, se obtiene bajo una fuerza iónica de 0.5mol/L, valor que se adoptará para todos los estudios posteriores,



**Figura 21**

### Variación de la intensidad de onda frente a la fuerza iónica

**Condiciones:** pH=5; Concentración de DADPA =1  $\mu\text{g/mL}$ ; Tiempo de acumulación 90s ; Potencial de acumulación=200mV; temperatura=10 °C; Step =1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

En cuanto al potencial de pico, apenas sufre variación manteniéndose prácticamente constante, pudiéndose comprobar en la tabla XIV, donde aparecen registrados los datos correspondientes a este estudio.

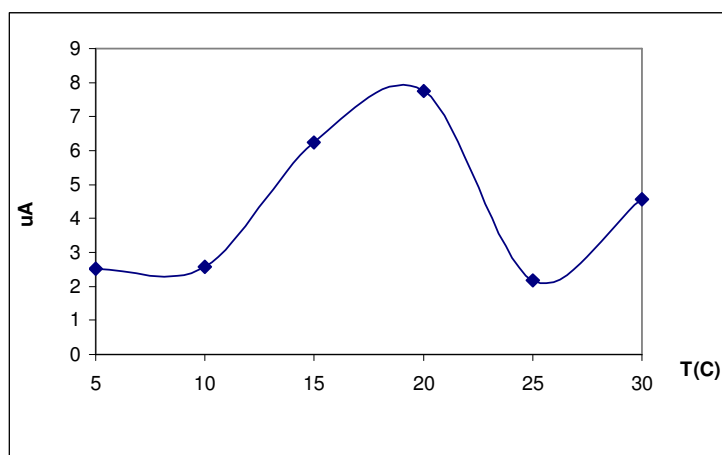
**Tabla XIV**

C(mol/L)	Ip(uA)	Ep(mV)
0,05	0,48	324
0,1	0,54	315
0,25	0,60	300
0,5	0,83	291
1	0,52	291
1,5	0,63	288
2	0,56	288

## 6.- Influencia de la temperatura

Como se indicó anteriormente, es necesario mantener una temperatura constante a lo largo de todos los estudios para obtener resultados reproducibles. Para ello se termostatiza a distintos valores de temperatura una disolución de 4,4'-diaminodifenilamina (DADPA) de concentración  $1\mu\text{g/mL}$ . Se estudiaron temperaturas comprendidas entre 5 y  $30^\circ\text{C}$ , a las que se miden tanto la intensidad como el potencial de pico obtenido.

Los mejores resultados se obtienen a temperaturas inferiores a  $20^\circ\text{C}$ , como puede observarse en la figura 22, donde se representa la variación de la intensidad de pico con respecto a la temperatura. Obteniéndose la máxima intensidad a  $15^\circ\text{C}$ .



**Figura 22**

### Variación de la intensidad de onda frente a la temperatura

**Condiciones:**  $\text{pH}=5$ ; Concentración de DADPA  $=1\mu\text{g/mL}$ ; Tiempo de acumulación 90s ; Potencial de acumulación  $=200\text{mV}$ ; temperatura  $=10^\circ\text{C}$ ; Step  $=1\text{mV}$ ; Amplitud de impulsos  $=20\text{mV}$ ; Frecuencia  $=200\text{Hz}$

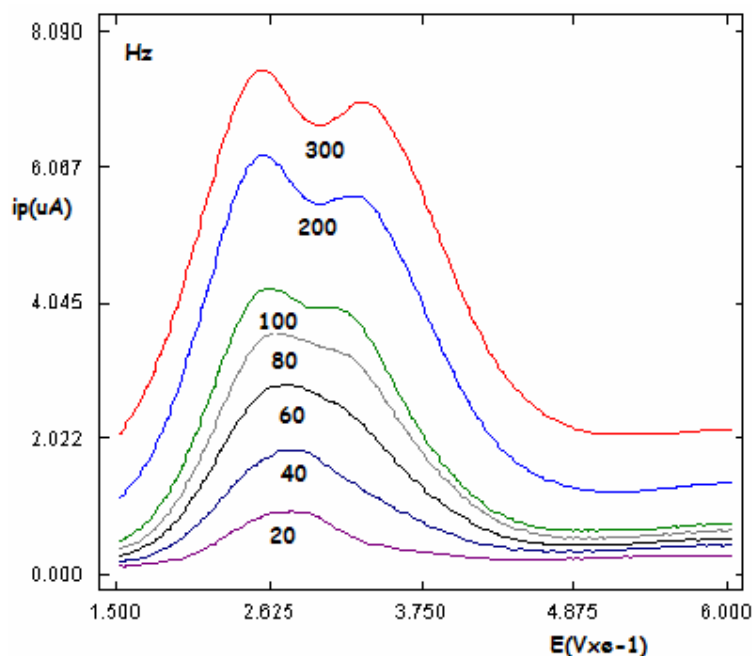
En cuanto al potencial de pico, apenas sufre variación, manteniéndose prácticamente constante.

## Variables instrumentales

### 7.- Influencia de la frecuencia

En este estudio se va a seguir la misma metodología que en el caso del electrodo sin modificación, es decir, se mantienen constantes todas las variables a excepción de la frecuencia, siendo las variables químicas empleadas aquellas con las que se logra la mayor intensidad de pico y la mejor resolución, deducidos en los estudios anteriores.

Algunos de los voltagramas obtenidos en este estudio se encuentran recogidos en la figura 23, donde puede observarse que a frecuencias altas, la onda obtenida se desdobra en dos; siendo la correspondiente a 200Hz la que se encuentra mejor definida, de manera que se puede considerar esta frecuencia como la más adecuada.



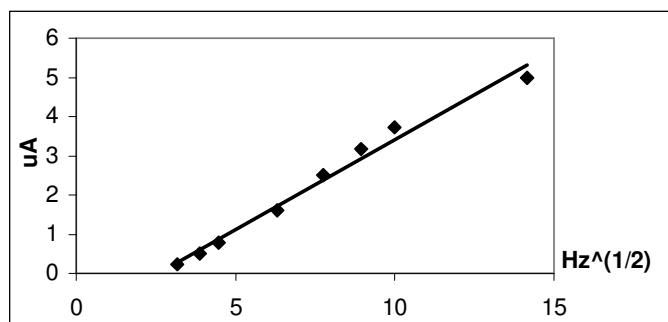
**Figura 23**  
**Influencia de la frecuencia**

**Condiciones:** pH=5, Concentración de DADPA =1μg/mL, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación =10 min, Tiempo de acumulación =300s, Potencial de acumulación=200mV; temperatura=10 °C Step =3mV, Amplitud de impulsos = 40mV.

Analizando los datos obtenidos y representando gráficamente la variación de la intensidad de pico frente a la frecuencia se observa una tendencia lineal que se ajusta a la raíz cuadrada según la ecuación:

$$i_p(\mu A) = 0,46f(\text{Hz})^{1/2} - 1,17$$

La oxidación electroquímica de la DADPA se encuentra regida por un proceso de difusión, dado que el tiempo que transcurre entre el comienzo del experimento y el final de la aplicación del potencial es muy pequeño, eliminando en este caso la etapa de adsorción.



**Figura 24**

**Variación de la intensidad de pico frente a la frecuencia**

El potencial de pico mantiene el mismo valor al modificar la frecuencia, como podemos ver en la tabla XV, lo que indica que el proceso de oxidación es un proceso electroquímicamente reversible. Datos que coinciden con lo obtenido en las ondas anódicas y catódicas al realizar el estudio de la velocidad de barrido en voltametría cíclica, y que se verá más adelante:

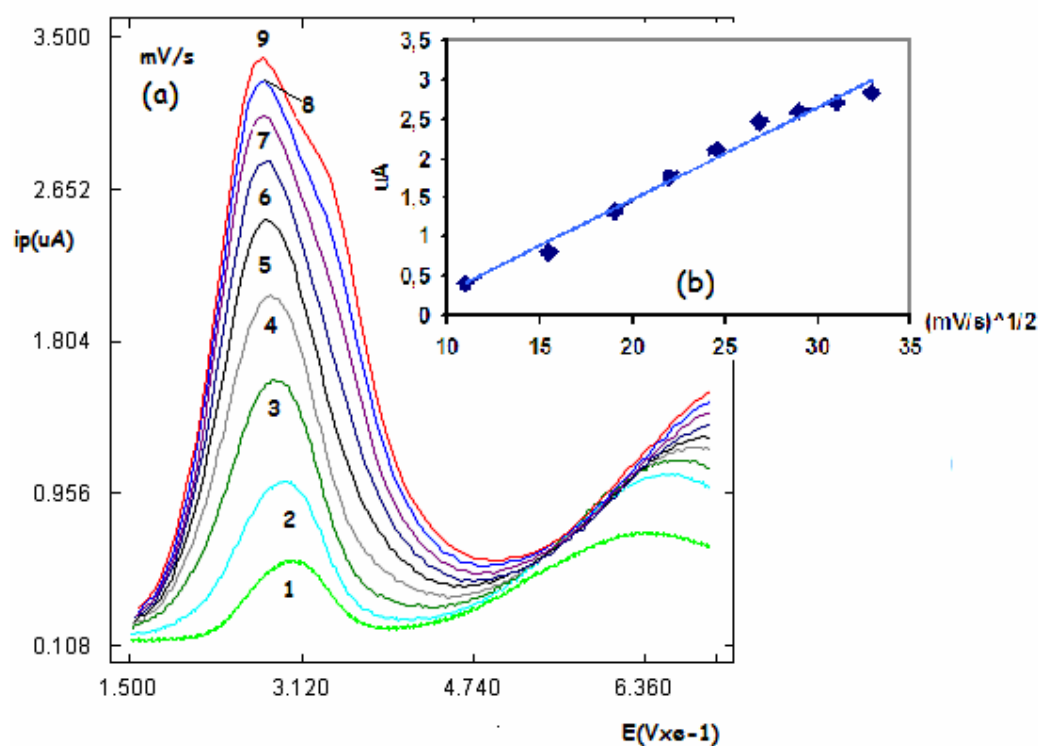
A la vista de la tabla XV, también se corrobora que la intensidad de pico es mayor a una frecuencia de 200Hz, como ya se observó en la figura 24.

**Tabla XV**

Frecuencia(Hz)	$I_p$ (uA)	$E_p$ (mV)
10	0,23	288
15	0,51	279
20	0,78	279
40	1,59	279
60	2,51	273
80	3,17	267
100	3,72	261
200	4,98	258
300	2,071	258
400	1,93	258
500	1,79	258
600	1,56	258
700	1,37	258
800	1,14	258
1000	1,16	264

## 8.- Influencia del step (escalón de potencial)

El step, al igual que la frecuencia, determina la velocidad de barrido en voltametría de onda cuadrada. Se mantienen constantes todas las variables excepto el step que se modifica dentro de un rango de valores entre 1 y 10mV, que corresponde a velocidades de barrido comprendidas entre 120 y 1200mV/s. La intensidad de pico varía entre 0.41 y 2.71  $\mu\text{A}$  aumentando considerablemente la anchura de semipico, mientras que el potencial de pico se mantiene prácticamente constante, como puede observarse al analizar los datos de la tabla XVI.



**Figura 25**  
**Influencia del step**

**Condiciones:** pH=5, Concentración de DADPA =  $1\mu\text{g/mL}$ , Concentración de C18 =  $10^{-5}\text{M}$ , Tiempo de modificación = 10 min, Tiempo de acumulación = 300s, Potencial de acumulación = 200mV; temperatura =  $10^\circ\text{C}$  Frecuencia = 120Hz, Amplitud de impulsos = 40mV

**Tabla XVI**

<b>mV</b>	<b>mV/s</b>	<b>Ip(μA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
1	120	0,41	302
2	240	0,80	296
3	360	1,32	285
4	480	1,76	282
5	600	2,12	280
6	720	2,47	282
7	840	2,59	276
8	960	2,71	278
9	1080	2,84	276
10	1200	2,70	280

Al representar gráficamente los datos recogidos en la tabla XVI (figura 25b ), se obtiene que la variación de la intensidad de pico respecto a la velocidad de barrido sigue una tendencia lineal que se ajusta a la raíz cuadrada según la ecuación:

$$ip(\mu A)=0.119v^{1/1}(mV/s)-0.899$$

Esto indica que la oxidación electroquímica se da a través de un proceso reversible, controlado por difusión; como era de esperar ya que la variación del step es junto con la frecuencia una modificación de la velocidad de barrido, de igual manera que en el estudio anterior se está eliminando la etapa de adsorción.

La oxidación electroquímica de la 4,4'-diaminodifenilamina es reversible, ya que al estudiar la variación del potencial (figura 25y tabla XVI) se observa que éste se mantiene prácticamente constante. Este hecho se terminará de constatar al efectuar el estudio de la velocidad de barrido en voltametría cíclica.

## 9.- Velocidad de barrido en voltametría cíclica

Mediante este estudio se trata de conocer el mecanismo de oxidación de la 4,4'-diaminodifenilamina y corroborar lo dicho en los estudios de la influencia de la frecuencia y del step, es decir que la oxidación electroquímica de la DADPA es reversible y se encuentra controlada por difusión. Para lo cual se realizaron sucesivos barridos en voltametría cíclica a distintas velocidades de barrido comprendidas entre 10mV/ y 1000mV/s, los voltagramas obtenidos, así como los valores de intensidad y potencial de pico se encuentran representados en la figura 27 a y en la tabla XVII .

Analizando los voltagramas, se observa que a partir de 200mV/s la onda anódica se desdobra en dos picos de intensidades similares, como ya ocurrió en el caso de la frecuencia.

Al representar gráficamente la variación de la intensidad de pico frente a la velocidad de barrido (figura 27 b) se observa una tendencia lineal que se ajusta a la raíz cuadrada según las ecuaciones:

$$\text{Onda anódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0.0388v^{1/2}(\text{mV/s}) - 0.029$$

$$i_p(\mu\text{A}) = 0.0414v^{1/2}(\text{mV/s}) - 0.0617$$

$$\text{Onda catódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0.0305v^{1/2}(\text{mV/s}) - 0.166$$

lo que indica que la oxidación electroquímica de la DADPA está regida principalmente por difusión, observándose una participación adsorbtiva, dada la morfología de los voltagramas, manteniéndose en la superficie del electrodo retenido el producto de la oxidación como aparece en la morfología de la onda catódica.



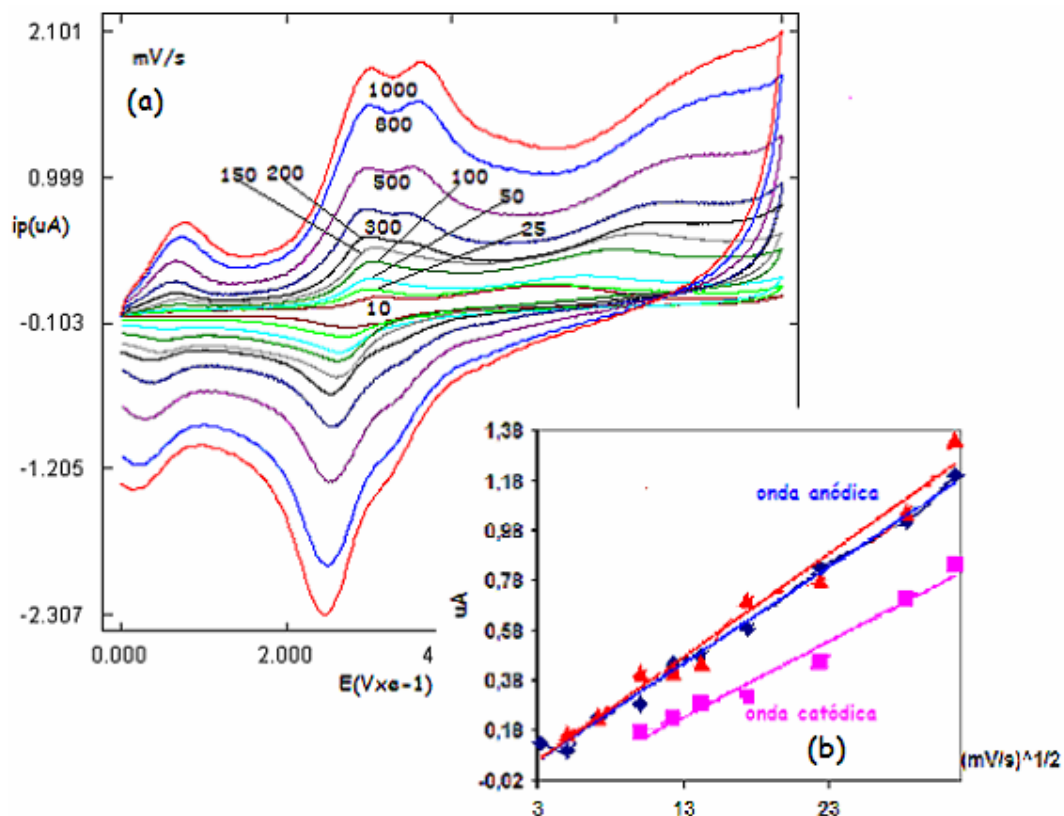


Figura 26

Influencia de la velocidad de barrido en voltametría cíclica.

Condiciones: pH=5, concentración DAPDA=1  $\mu g/mL$ , temperatura=10 °C; potencial inicial=0mV, potencial final=0mV, switching potencial=500mV

Tabla XVII

onda anódica			onda catódica				
			mV/s	A		B	
mV/s	uA	mV		uA	mV		
10	0,13	317	10	0,1	524		
25	0,10	299	25			0,16	270
50	0,23	340	50			0,23	263
100	0,29	309	100	0,17	599	0,41	263
150	0,45	308	150	0,23	636	0,41	262
200	0,48	302	200	0,29	652	0,45	253
300	0,59	295	300	0,31	661	0,71	257
500	0,83	296	500	0,45	716	0,78	251
800	1,02	300	800	0,71	799	1,055	247
1000	1,20	302	1000	0,85	799	1,34	247

Observando los resultados de la tabla XVII y la figura 26, donde se encuentran representados los voltagramas correspondientes a este estudio, puede comprobarse que el potencial se mantiene constante y que como la diferencia de potencial entre la onda anódica y la catódica es inferior a 0.003V, se deduce que el proceso de oxidación electroquímica de la DADPA es reversible.

Resumiendo, la oxidación electroquímica de la 4,4'-diaminodifenilamina es electroquímicamente reversible y está controlada por difusión. Quedando demostrado lo indicado, anteriormente, en los estudios de la frecuencia y el step.

## 10.- Influencia de la amplitud de impulsos

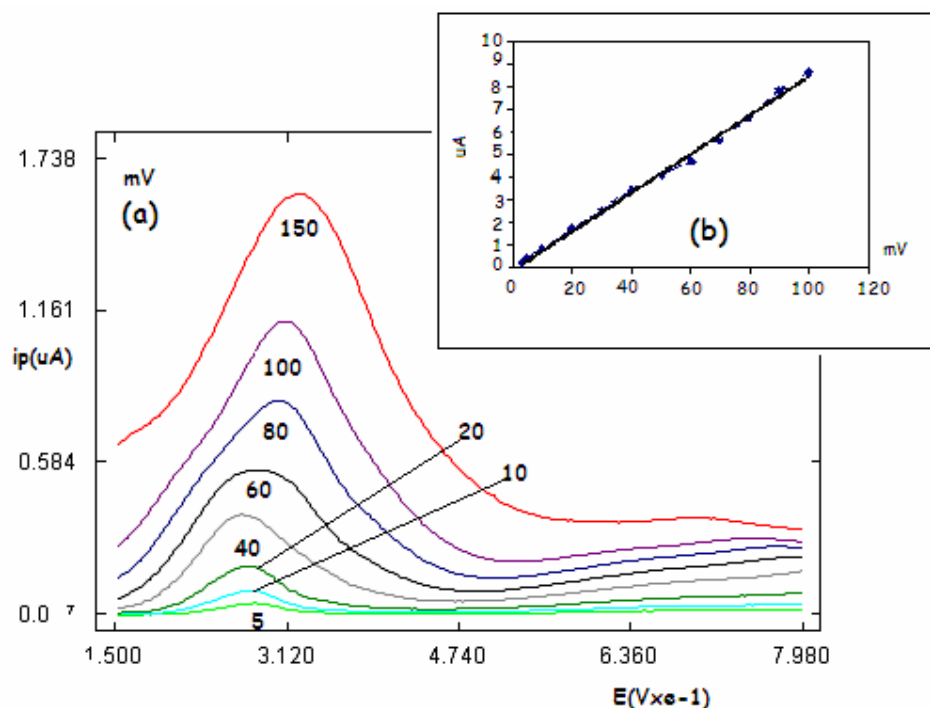
En la realización de este estudio se ha seguido el mismo procedimiento que en el caso de los estudios anteriores, es decir, se mantienen constantes todas las variables a excepción de la amplitud de impulsos.

Este estudio se llevó a cabo dentro de un rango de amplitudes de impulsos comprendido entre 5mV y 250mV, aumentando la anchura de semipico al incrementarse la amplitud de impulsos. Algunos de los voltagramas en onda cuadrada obtenidos se encuentran recogidos en la figura 27, así como la variación de la intensidad de pico con respecto a la amplitud de impulsos; la cual sigue una tendencia lineal que se ajusta a la ecuación:

$$i_p(\mu A)=0.085\Delta E(mV)+0.057$$

experimentando el potencial de pico la variación correspondiente a la modificación de las técnicas impulsionales, es decir:

$$E_1=E_{1/2}\pm\Delta E/n$$



**Figura 27**  
**Influencia de la amplitud de impulsos**

**Condiciones:** pH=5, Concentración DADPA =1 $\mu$ g/mL, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación =10 min, Tiempo de acumulación 300s, Potencial de acumulación=200mV; temperatura=10 °C; Step =3mV, Frecuencia = 120Hz

En cuanto al comportamiento del potencial de pico con respecto a la variación de la amplitud de impulsos, el primero se mantiene constante, es decir no se modifica prácticamente su valor. De manera que es necesario llegar a una situación de compromiso entre sensibilidad (mayor intensidad de pico) y selectividad (menor anchura de semipico), que se alcanza a un valor de anchura de semipico de 40mV. Esto puede comprobarse analizando la figura 27 y a partir de los datos correspondientes a este estudio, que están recogidos en la tabla XVIII.

**Tabla XVIII**

<b>mV</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>1</b>		
<b>3</b>	0,20	285
<b>5</b>	0,42	282
<b>10</b>	0,86	279
<b>20</b>	1,71	276
<b>30</b>	2,53	273
<b>40</b>	3,43	270
<b>50</b>	4,12	273
<b>60</b>	4,69	282
<b>70</b>	5,62	297
<b>80</b>	6,64	303
<b>90</b>	7,88	306
<b>100</b>	8,65	309
<b>150</b>	10,74	327
<b>200</b>	10,99	339
<b>250</b>	10,31	345

## 11.- Influencia de la concentración

Los estudios previos de las variables químicas e instrumentales se realizaron con el fin de obtener de las condiciones más adecuadas para la determinación de la 4,4'-diaminodifenilamina (DADPA), estas condiciones encontradas son:

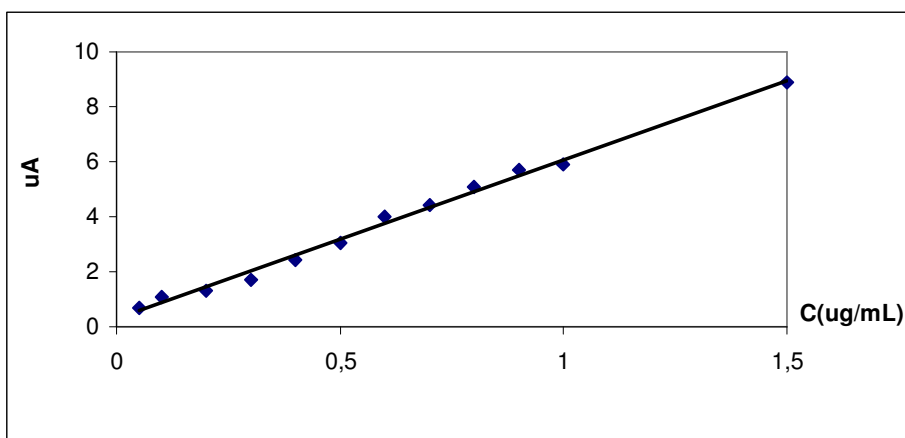
**pH=5, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación =10 min, Tiempo de acumulación =300s, Potencial de acumulación =200mV, Potencial inicial =200mV, Potencial final=800mV, Step = 3V, Amplitud de impulsos =40mV, Frecuencia = 120Hz**

Bajo estas condiciones se realizó el estudio de la influencia de la concentración de analito, DADPA, observándose una tendencia lineal, al representar la variación de la intensidad de pico en función de la concentración de 4,4'-diaminodifenilamina (figura 28), que se ajusta a la ecuación:

$$i_p(\mu A) = 5,78C(\mu g/mL)+0,29$$

$$R^2 = 0,994$$

manteniéndose el potencial de pico constante, como puede comprobarse en la tabla XIX



**Figura 28**  
**Variación de la intensidad de onda frente a la concentración de DADPA**

La recta de calibrado se encuentra comprendida entre los valores de concentración de 0,05 a 1,5  $\mu g/mL$ , valores superiores de concentración no aparecen representados porque se produce una desviación de la linealidad.

Tabla XIX

C(ug/mL)	Ip(uA)	Ep(mV))
0,05	0,21	367
0,1	0,25	360
0,2	0,31	351
0,3	0,36	345
0,4	0,41	348
0,5	0,47	342
0,6	0,54	348
0,7	0,57	351
0,8	0,60	348
0,9	0,68	351
1,0	0,69	348
1,5	0,65	348
2,0	0,67	345
2,5	0,69	348
3,0	0,68	354
3,5	0,68	357
4,0	0,68	360
4,5	0,66	354
5,0	0,66	360

A través de los estudios llevados a cabo con tres disoluciones de distintas concentraciones y realizadas diez medidas con cada una de las disoluciones, encontramos que, el método tiene una exactitud de 0.021 % (error relativo) y una precisión de 3.19% (desviación estándar relativa). Los límites de detección y determinación son 0.015 y 0.38 $\mu$ g/mL respectivamente, viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.

## **Estudios con el electrodo modificado con C8**

El C<sub>8</sub> como modificador puede presentar diferentes condiciones de aporte de materia electroactiva a las encontradas en la modificación con C<sub>18</sub>, esto puede ser debido a la menor longitud de las cadenas del C<sub>8</sub> y a su posibilidad de entrecruzamiento, formando la monocapa en la superficie del electrodo. Esto puede alterar los canales de transferencia de masa, así como la interacción del analito con el modificador, hecho que se manifestará en la respuesta electroquímica.

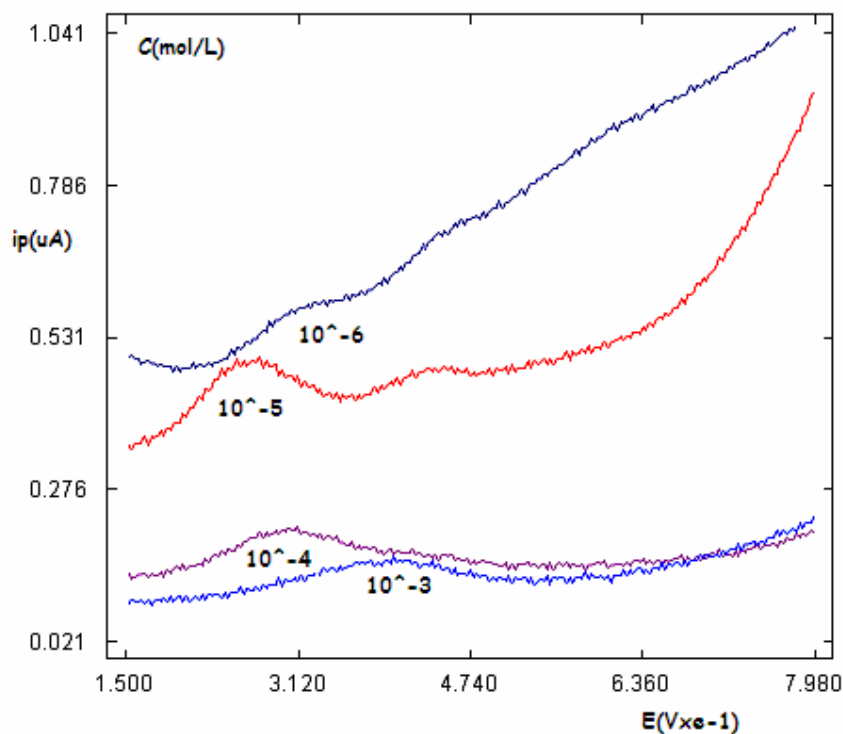
Con objeto de comprobar la influencia de la longitud de la cadena del modificador en la respuesta electroquímica, se realizan los estudios de las diferentes variables químicas e instrumentales con el mismo compuesto (DADPA) utilizando C<sub>8</sub> y se comparan los resultados finales con los obtenidos al utilizar C<sub>18</sub> como modificador.

## 1.- Influencia de la concentración de modificador

En primer lugar estudiaremos la influencia de la concentración del modificador, como con  $C_{18}$ . Siendo el objetivo de este estudio controlar la formación de los canales de acceso restringido hacia la superficie del electrodo, a través de los cuales se produce la oxidación electroquímica de la 4,4'-diaminodifenilamina.

Cuanto mayor sea la concentración de la disolución de modificador, más pequeño será el tamaño de estos canales, dificultándose de esta manera la oxidación electroquímica del 4,4'-dianminodifenilamina en la en la superficie del electrodo. El rango de concentraciones con que se ha efectuado este estudio se encuentra comprendido entre  $10^{-3}$  mol/L y  $10^{-6}$  mol/L.

Para conseguir resultados reproducibles cuando el electrodo de oro se encuentra modificado, es necesario controlar la temperatura y que ésta se encuentre siempre por debajo de  $15^{\circ}\text{C}$ , para lo que se termostatan todas la disoluciones a  $10^{\circ}\text{C}$ , realizándose un estudio de la influencia de la temperatura a continuación.



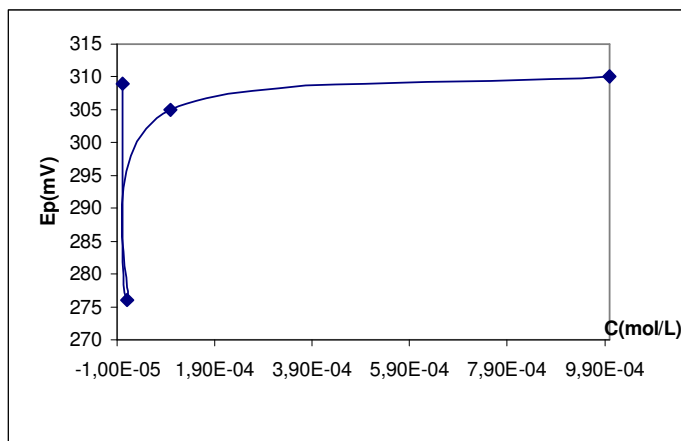
**Figura 30**

**Influencia de la concentración del modificador  $C_8$**

**Condiciones:** pH=11; Concentración de DADPA =  $1\mu\text{g/mL}$ ; Tiempo de modificación=5min; Tiempo de acumulación =90s; Potencial de acumulación=-150mV; temperatura= $10^{\circ}\text{C}$ ; Step=3mV Amplitud de impulsos=40mV; Frecuencia=120Hz



La figura 30 muestra el comportamiento del electrodo modificado con respecto a la DADPA, observándose que a medida que aumenta la concentración del modificador disminuye la intensidad de oxidación, hecho, por otra parte predecible, debido a que ha disminuido la superficie del electrodo. Pero además hay un cambio en el potencial de pico, lo que muestra que se produce un cambio en la velocidad de transferencia de masa, como se puede observar en la figura 31.



**Figura 31**

**Variación del potencial de pico con respecto a la concentración de modificador.**

A una concentración de modificador de  $10^{-5}$  mol/L se obtienen los canales de acceso restringido hacia la superficie del electrodo más adecuados para la oxidación electroquímica de la 4,4'-diaminodifenilamina. La modificación que se produce es superior a la que se logra con  $C_{18}$ , ya que las intensidades de pico obtenidas al realizar la modificación con  $C_8$  son menores que las obtenidas al modificar el electrodo con  $C_{18}$ , el compuesto está mas fuertemente retenido al modificar con  $C_8$ .

Los datos correspondientes a este estudio se encuentran registrados en la tabla XX.

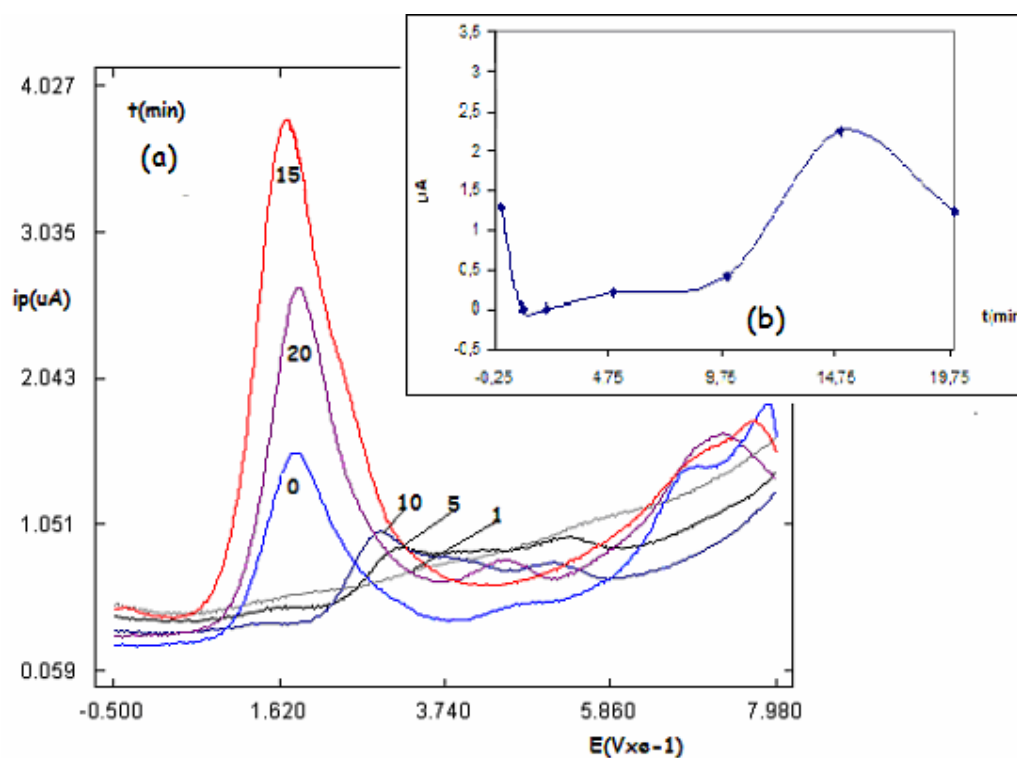
**Tabla XX**

C(mol/L)	Ip(μA)	Ep(mV)
0,000001	0,027	309
0,00001	0,11	276
0,0001	0,072	305
0,001	0	310

## 2.- Influencia del tiempo de modificación

Otra variable que hay que considerar en la modificación de un electrodo es la forma en que influye el tiempo de modificación de la superficie del electrodo.

El estudio se realiza empleando concentraciones de modificador de  $10^{-5}$  mol/L, obteniéndose la mayor intensidad para un tiempo de 15 minutos lo que indica que es al que se produce la máxima modificación del electrodo. A tiempos de modificación superiores a 15 minutos la intensidad de pico disminuye, debido, posiblemente a la saturación de la superficie del electrodo, impidiéndose de esta manera el acceso de las moléculas de 4,4'-diaminodifenilamina (DADPA) hacia la superficie del electrodo de oro para su oxidación electroquímica.



**Figura 32**

**Variación de la intensidad de onda ( $\mu$ A) frente al potencial (mV)**

**Condiciones:** pH= 11; Concentración de DADPA =  $1\mu\text{g/mL}$ ; Concentración de  $C_8 = 10^{-5}\text{M}$ ; Tiempo de acumulación = 90s; Potencial de acumulación = -150mV; temperatura =  $10^\circ\text{C}$ ; Step = 1mV; Amplitud de impulsos = 20mV; Frecuencia = 200Hz

El comportamiento de este modificador es idéntico al observado cuando se utiliza el C18. Sin embargo la diferencia longitudinal de la cadena del modificador influye en cómo se desplaza el potencial de pico. Si se observan la figura 32 y la tabla XXI, puede verse como a medida que disminuye la intensidad de pico aumenta el potencial, lo que es indicativo de que la energía necesaria para la oxidación del compuesto aumenta, estando

en idénticas condiciones, lo cual puede deberse a la modificación de la transferencia de masa.

Los datos correspondientes a este estudio se encuentran recogidos en la tabla XXI.

**Tabla XXI**

<b>t(min)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>0</b>	3,28	172
<b>1</b>	0	0
<b>2</b>	0	0
<b>5</b>	0,20	314
<b>10</b>	0,41	292
<b>15</b>	2,16	190
<b>20</b>	1,23	184

### 3.- Influencia del pH

El rango de pH empleado en este estudio es el mismo que en el caso del electrodo sin modificar y modificado con C<sub>18</sub>, es decir, entre pH 2 y pH 11, todos ellos con una concentración de electrolito de 0.5 M, estudiándose a continuación la influencia que ejerce la concentración del electrolito o fuerza iónica.

En la figura 33 aparecen recogidos los voltagramas correspondientes a este estudio, donde puede observarse, que en este caso, al contrario que en los estudios anteriores sobre la influencia del pH para esta molécula, DADPA, se obtiene la señal más intensa a pH básicos, concretamente a pH 11 y no a valores de pH ácidos.

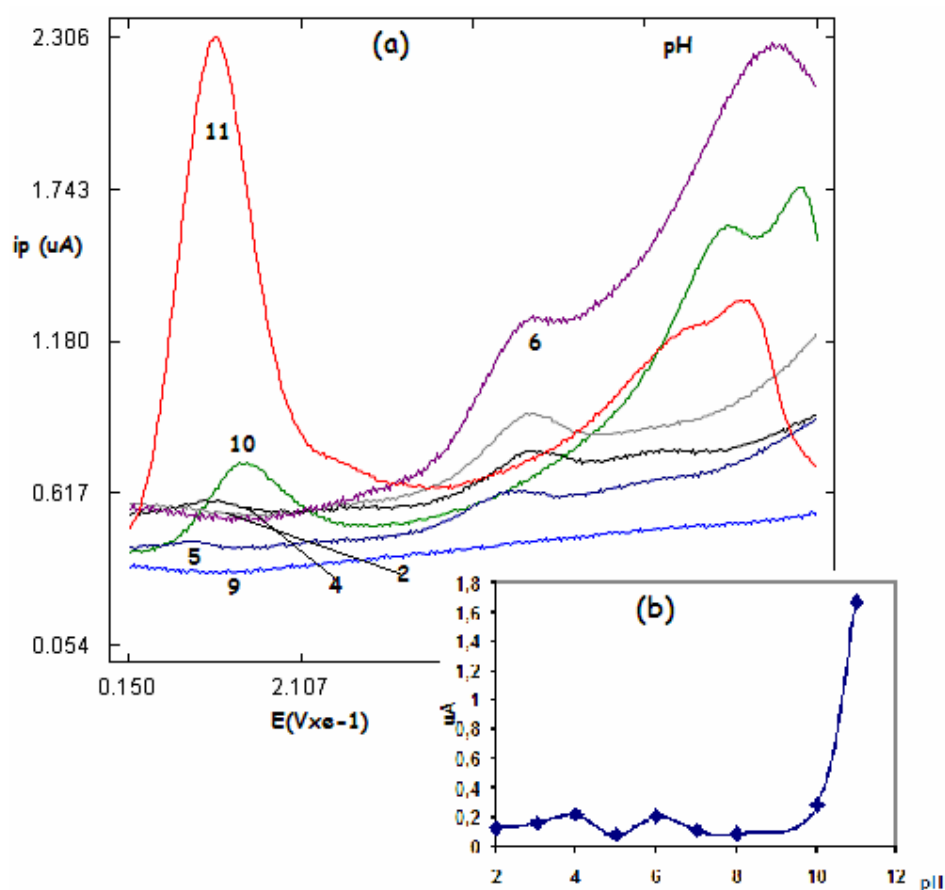


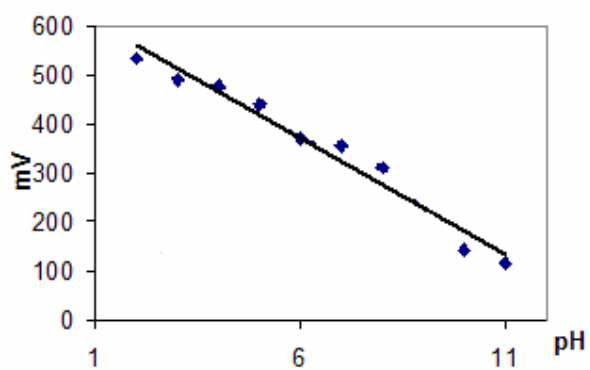
Figura 33.

#### Variación del pH

**Condiciones:** Concentración de DADPA =  $1 \mu g/mL$ , Concentración de C<sub>18</sub> =  $10^{-5} M$ , Tiempo de modificación = 15 min, Tiempo de acumulación = 90s, Potencial de acumulación =  $-150 mV$ ; temperatura =  $10^\circ C$ ; Step =  $3 mV$ , Amplitud de impulsos =  $40 mV$ , Frecuencia =  $120 Hz$

En la figura 34, aparece representada la variación del potencial de pico respecto al pH, la cual presenta una tendencia lineal que se ajusta a la ecuación:

$$E(mV) = -47.56pH + 655.15$$



**Figura 34**

**Variación del potencial frente al pH**

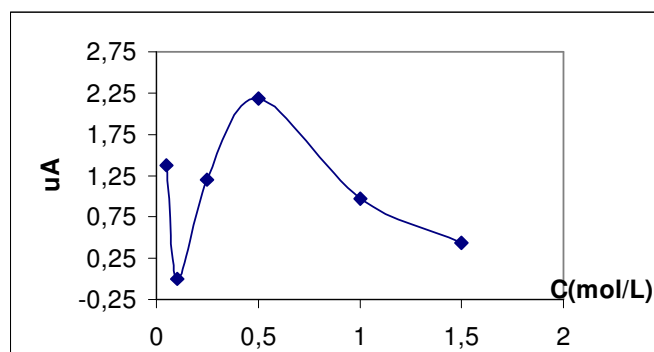
**Tabla XXII**

pH	Ip(μA)	Ep(mV)
2	0,13	533
3	0,16	489
4	0,21	477
5	0,079	439
6	0,21	372
7	0,12	356
8	0,086	311
10	0,28	141
11	1,67	115

#### 4.- Influencia de la fuerza iónica

Este estudio se ha llevado a cabo en medio tampón acético/acetato a pH 5, dentro de un rango de concentraciones de electrolito comprendido entre 0.05 y 1.5 mol/L.

En la figura 35, donde aparece la representación gráfica de la variación de la intensidad de pico con respecto a la fuerza iónica, puede observarse que es a una concentración de analito (fuerza iónica) de 0.5 mol/L a la que se obtiene la señal más intensa, estando la onda mejor definida.



**Figura 35**

**Variación de la intensidad de onda frente a la fuerza iónica**

**Condiciones:** pH=11, Concentración de DADPA =1  $\mu\text{g/mL}$ ; Concentración de C8=  $10^{-5}\text{M}$ ; Tiempo de modificación =15 min Tiempo de acumulación =90s ; Potencial de acumulación=-150mV; temperatura=10  $^{\circ}\text{C}$ ; Step =1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

## 5.- Influencia de la temperatura

El estudio de esta variable tiene el objeto de controlar la quimiadsorción en la superficie del electrodo, ya que en caso de no tener un control de la temperatura, los resultados obtenidos se encontrarían enormemente dispersos y no serían reproducibles.

Este estudio, al igual que en el caso del electrodo desnudo, sin modificar, y modificado con di-n-octadecildisulfuro se ha realizado dentro de un rango de temperaturas comprendido entre 5 y 25°C, observándose (figura36) que a temperaturas inferiores a 15°C se obtienen los picos más intensos, siendo la temperatura de 10°C la que proporciona la onda mejor definida y de mayor intensidad de pico.

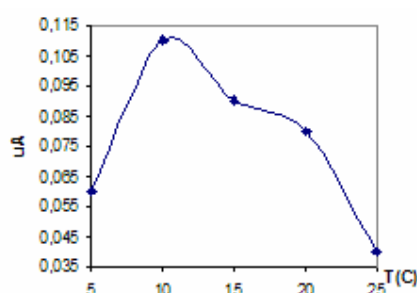


Figura 36

Variación de la intensidad frente a la temperatura.

**Condiciones:** pH=11; Concentración de DADPA =1 $\mu$ g/mL, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación=10 min, Tiempo de acumulación 90s, Potencial de acumulación=-150mV; Step =3mV, Amplitud de impulsos =40mV, Frecuencia =120Hz

Como se puede comprobar en la tabla XXIII, el potencial de oxidación no sufre apenas variación al modificar la temperatura de la disolución de DADPA objeto de estudio.

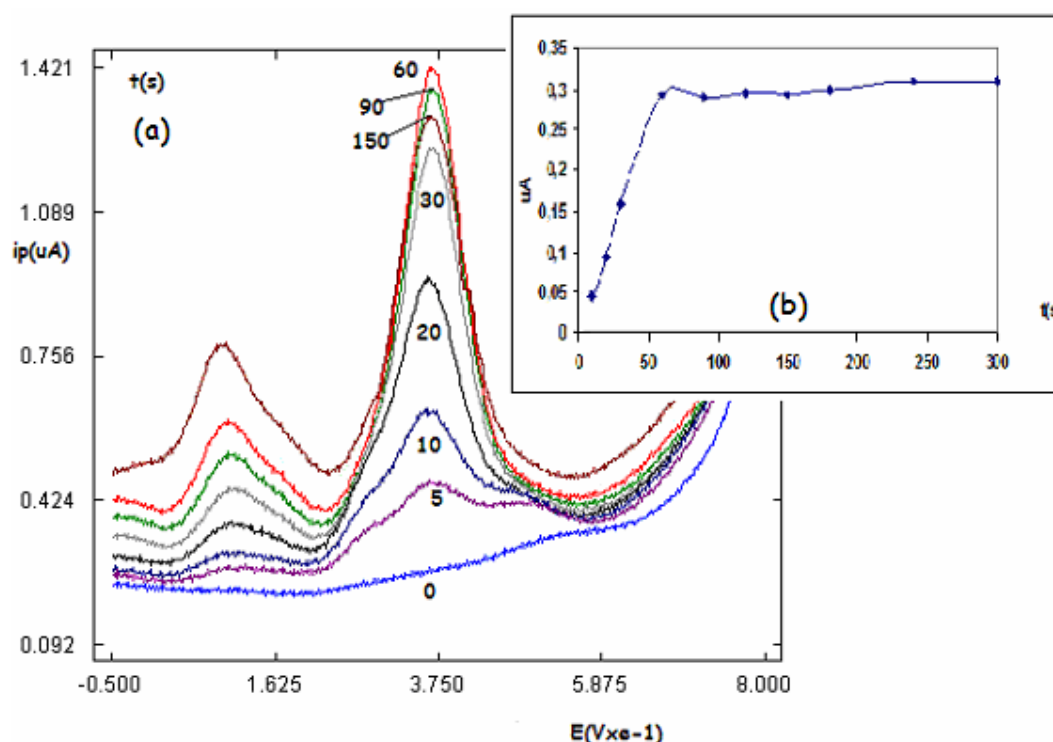
Tabla XXIII

T(°C)	Ip(μA)	Ep(mV)
5	0,058	140
10	0,11	193
15	0,091	128
20	0,079	141
25	0,036	141

## 6.- Influencia del tiempo de acumulación

El estudio de la influencia del tiempo de acumulación, tiene como finalidad conocer el comportamiento del electrodo de trabajo cuando se depositan sobre él moléculas de 4,4'-diaminodifenilamina durante unos tiempos de acumulación conocidos.

El procedimiento seguido en este estudio ha sido el mismo que en todos los casos anteriores, es decir, mantener constantes todas las variables a excepción de la que se está estudiando. La acumulación de la DADPA se lleva a cabo bajo un potencial de acumulación conocido que se mantiene fijo, concretamente -150mV, manteniéndose la disolución de DADPA bajo agitación constante durante todo el proceso de acumulación, la cual se detiene durante la medida de la intensidad y el potencial de pico de la molécula objeto de estudio. Encontrándose los voltagramas en onda cuadrada, así como la representación gráfica de la variación de la intensidad de pico frente al tiempo de acumulación en segundos, recogidos en las figura 37 a y 37 b.



**Figura 37**

**Variación de la intensidad de pico frente al tiempo de acumulación**

**Condiciones:** pH= 11; DADPA =1 $\mu$ g/mL; Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación =15 min, Potencial de acumulación =-150mV; temperatura =10° C , Step =3mV, Amplitud de impulsos =40mV, Frecuencia =120Hz

Como se puede observar en la figura 37, el tiempo de acumulación más adecuado es de 60 segundos ya que es el que nos da la señal mejor definida. Además también se puede comprobar en la figura 37 b y en la tabla XXIV, que las intensidades de todas las



señales comprendidas entre 90 y 300 segundos son prácticamente iguales, lo que es indicativo de la saturación del electrodo.

Esta variable muestra que la presencia de  $C_8$  en la superficie del electrodo como modificador produce un carácter fundamentalmente adsorptivo en las condiciones de trabajo, puesto de manifiesto en la onda previa, que es característica de una adsorción, lo que permitirá aumentar la sensibilidad del método pudiendo disminuir los límites de detección y controlar la selectividad, debido a que tenemos controlado el acceso a la superficie electroactiva del electrodo por parte de la especie electroactiva.

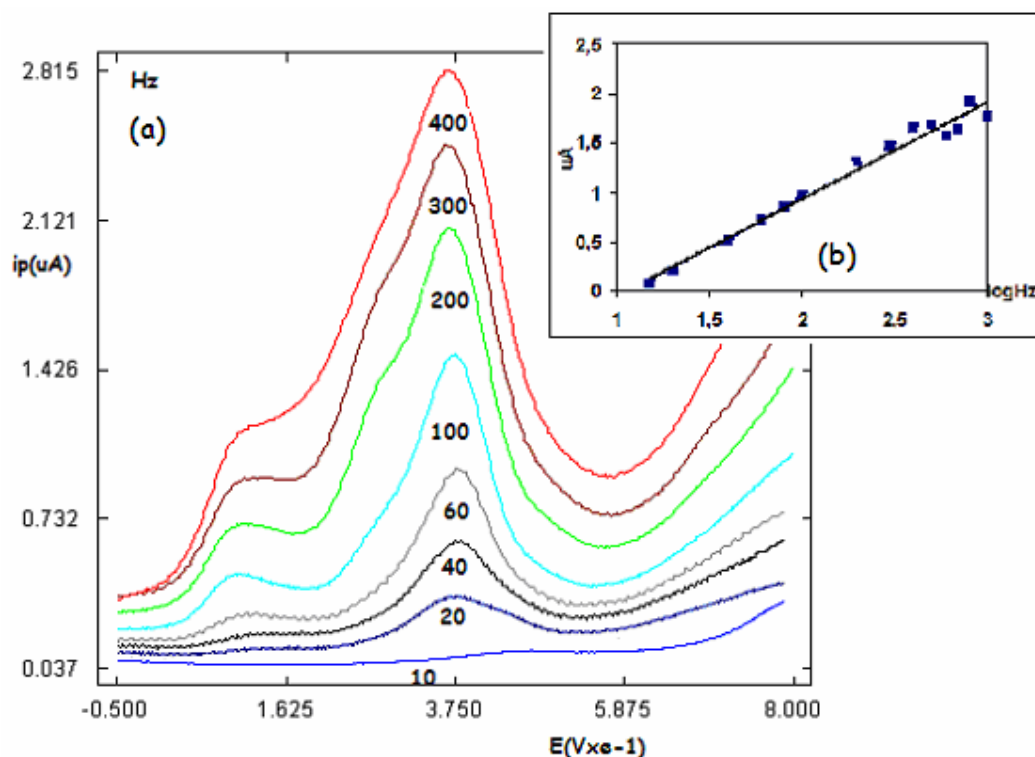
**Tabla XXIV**

<b>t(s)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>10</b>	0,045	110
<b>20</b>	0,094	110
<b>30</b>	0,16	110
<b>60</b>	0,16	103
<b>90</b>	0,21	101
<b>120</b>	0,24	95
<b>150</b>	0,26	96
<b>180</b>	0,30	98
<b>240</b>	0,32	98
<b>300</b>	0,31	90
<b>600</b>	0,37	90
<b>900</b>	0,36	90

## Variables instrumentales

### 7.- Influencia de la frecuencia

La metodología a seguir en este estudio es la misma que se empleó cuando se efectuó este mismo estudio para el electrodo sin modificar y modificado con C<sub>18</sub>, es decir, se mantienen constantes todas las variables con excepción de la frecuencia, la cual se modificará dentro de un rango comprendido entre 10 y 1000 Hz, encontrándose alguno de los voltagramas obtenidos recogidos en las figuras 38 a y 38 b.



**Figura 38**

#### **Influencia de la frecuencia en el electrodo modificado con C8**

**Condiciones:** pH= 11; DADPA =1 $\mu$ g/mL; Concentración de C<sub>18</sub> =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación =10 min, Tiempo de acumulación =60s; Potencial de acumulación=-150mV; temperatura=10 °C, Step =3mV, Amplitud de impulsos =40mV

En esta figura se encuentra representada la variación de la intensidad de pico con respecto a la frecuencia (figura 38 b), observándose una tendencia lineal que se ajusta al logaritmo de la frecuencia según la ecuación:

$$i_p(\mu A)=1.004\log f(Hz)- 1.06$$

indicando que el proceso de oxidación electroquímico de la 4,4'-diaminodifenilamina se encuentra controlado por adsorción.

A la vista de la figura 38 a, para estudios posteriores se elegirá 200Hz como frecuencia adecuada, ya que es la que da la onda que posee la menor anchura de semipico.

En la figura 38 a se aprecia una preonda de adsorción, manteniéndose el potencial de pico constante a todos los valores de frecuencia, lo que es indicativo de que el sistema es electroquímicamente reversible

En cuanto a la evolución del potencial podemos comprobar en la tabla XXV que apenas sufre variación, siendo la diferencia entre el valor máximo de potencial 218 y el mínimo 95mV es de 0.123V.

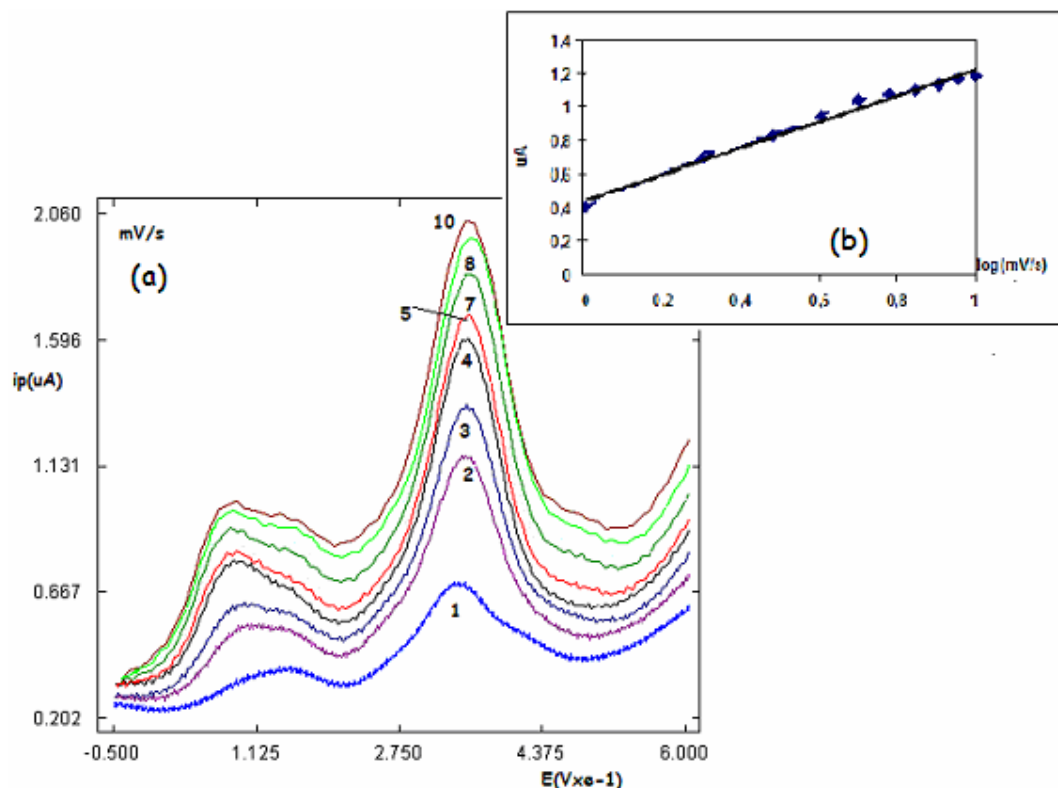
**Tabla XXV**

<b>Frecuencia(Hz)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>15</b>	0,087	131
<b>20</b>	0,21	130
<b>40</b>	0,51	124
<b>60</b>	0,72	109
<b>80</b>	0,85	108
<b>100</b>	0,98	102
<b>200</b>	1,30	112
<b>300</b>	1,47	98
<b>400</b>	1,65	95
<b>500</b>	1,68	97
<b>600</b>	1,57	102
<b>700</b>	1,64	108
<b>800</b>	1,92	110
<b>1000</b>	1,76	218

## 8.- Influencia del step (escalón de potencial)

Al modificar el step ocurre algo muy similar que con la modificación de la amplitud de impulsos, es decir, a valores elevados de step las ondas se ensanchan mucho deformándose y perdiendo definición.

Para llevar a cabo este estudio, se produce un incremento de la velocidad de barrido manteniendo constante la frecuencia, de manera que se modifica la velocidad de barrido entre 120 y 1200mV/s (o entre 1 y 10mV). Los voltagramas obtenidos en onda cuadrada los que aparecen representados en la figura 39 a.



**Figura 39**  
**Influencia del step**

**Condiciones:** pH= 11; DADPA =1 $\mu$ g/mL; Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación =10 min, Tiempo de acumulación =60s , Potencial de acumulación =-150mV; temperatura =10 °C; Frecuencia =120Hz; Amplitud de impulsos =40mV

En la figura 39 b también aparece representada la variación de la intensidad de pico con respecto a la variación de la velocidad de barrido, siendo esta variación de tipo logarítmica según la ecuación:

$$E(mV)=0,064\log(mV/s)+0,089$$

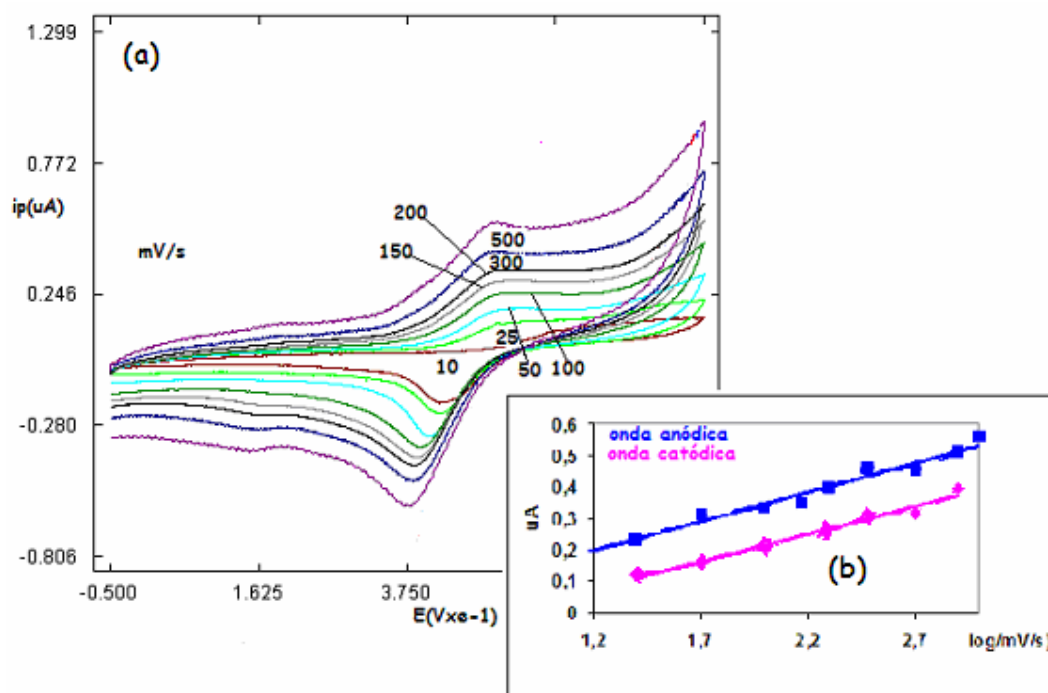
En el caso del estudio del step, la evolución del potencial de pico es similar a la de la frecuencia, es decir, se mantiene prácticamente constante, lo que puede comprobarse con los datos que se encuentran recogidos en la tabla XXVI.

**Tabla XXVI**

<b>mV</b>	<b>mV/s</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mv)</b>
<b>1</b>	<b>120</b>	0,042	139
<b>2</b>	<b>240</b>	0,067	139
<b>3</b>	<b>360</b>	0,079	139
<b>4</b>	<b>480</b>	0,089	142
<b>5</b>	<b>600</b>	0,091	135
<b>6</b>	<b>720</b>	0,093	140
<b>7</b>	<b>840</b>	0,097	139
<b>8</b>	<b>960</b>	0,103	150
<b>9</b>	<b>1080</b>	0,104	137
<b>10</b>	<b>1200</b>	0,113	137

## 9.- Influencia de la velocidad de barrido en voltametría cíclica

La figura 40 a muestra la respuesta al variar la velocidad de barrido en voltamperometría cíclica para velocidades de barrido comprendidas entre 10mV/s hasta 1000mV/s. No habiéndose producido acumulación en este estudio y como aparece indicado en la figura 40, siendo la concentración de analito diez veces superior que en los estudios realizados en voltametría de onda cuadrada. En dichos voltagramas se observa que el proceso electroquímico ocurre en una sola etapa, debido a la influencia del modificante. Indicando, que debido al entrecruzamiento de la cadena de 1-octanotiol, la orientación de la molécula de 4,4'-diaminodifenilamina es similar a la que se produce en el momento de la acumulación.



**Figura 40**

### Influencia de la velocidad de barrido en voltametría cíclica

**Condiciones:** pH= 11; Concentración de DADPA =10  $\mu\text{g/mL}$ ; Concentración de  $C_8$  = $10^{-5}\text{M}$ ; Tiempo de modificación = 15min; Potencial inicial =-150mV, potencial final = -150mV; switching potencial = 500mV; temperatura =10  $^{\circ}\text{C}$

La intensidad de pico anódica y catódica varía al modificar la velocidad de barrido según las ecuaciones:

$$\text{Onda anódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0,18 \log v(\text{mV/s}) - 0,019$$

$$\text{Onda catódica; } i_p(\mu\text{A}) = 0,18 \log v(\text{mV/s}) - 0,17$$

encontrándose representada dicha variación en la figura 40 b.

Dichos estudios indican que el sistema tiene un comportamiento difusivo, controlado por adsorción. Confirmando de esta manera lo obtenido en el estudio de la influencia de la frecuencia y del step.

Observando los datos correspondientes a este estudio, que se encuentran en la siguiente tabla (Tabla XXVII), se comprueba que la diferencia de potencial entre la onda anódica y la catódica es superior a 0.003V, por lo que, en este caso, la oxidación electroquímica de la DADPA es irreversible.

**Tabla XXVII**

<b>onda anódica</b>			<b>onda catódica</b>		
<b>mV/s</b>	<b>uA</b>	<b>mV</b>	<b>mV/s</b>	<b>uA</b>	<b>mV</b>
<b>10</b>	0,18	150	<b>25</b>	0,17	573
<b>25</b>	0,20	196	<b>50</b>	0,16	537
<b>50</b>	0,34	149	<b>100</b>	0,11	535
<b>100</b>	0,33	173	<b>200</b>	0,24	517
<b>150</b>	0,30	164	<b>300</b>	0,34	504
<b>200</b>	0,34	168	<b>500</b>	0,29	505
<b>300</b>	0,66	115	<b>800</b>	0,47	514
<b>500</b>	0,26	165	<b>1000</b>	0,19	516
<b>800</b>	0,51	260			
<b>1000</b>	0,72	268			

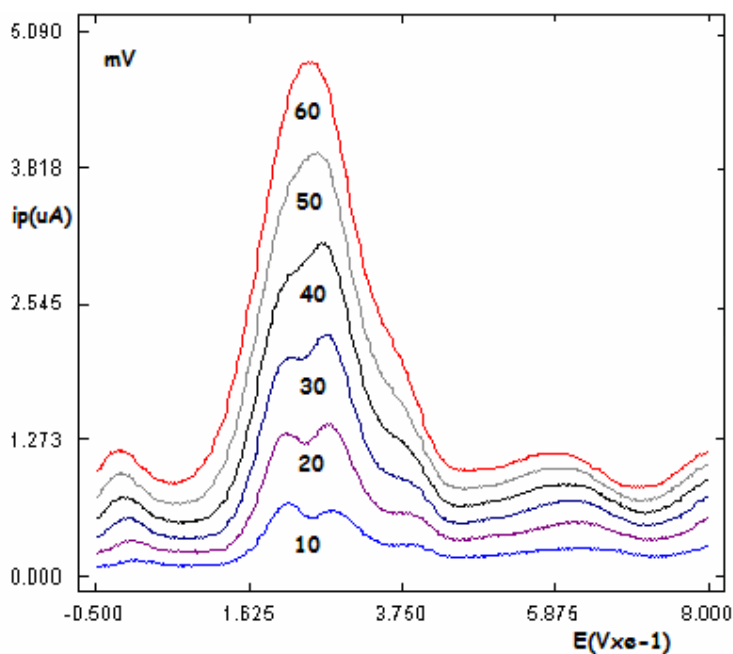
Como conclusión de los estudios anteriores y comparando los resultados con los obtenidos al realizar la modificación con C<sub>18</sub>, se comprueba que la modificación con C<sub>8</sub> proporciona al electrodo de oro propiedades diferentes a las aportadas por el C<sub>18</sub>.

En la interacción con la especie electroactiva al modificar el electrodo con C<sub>8</sub> predomina un carácter fuertemente adsortivo, a diferencia de cuando se modifica con C<sub>18</sub>, que la especie se difunde a través de los canales, presentando únicamente adsorción cuando se purga a un potencial de acumulación.

## 10.- Influencia de la amplitud de impulsos

En la realización de este estudio se ha seguido la misma metodología que en los estudios anteriores, se mantienen constantes todas las variables a excepción de la amplitud de impulsos, se variará dentro de un rango de amplitudes de impulsos comprendido entre 5mV y 250mV.

Los voltagramas obtenidos se encuentran representados en la figura 41 a.



**Figura 41**  
**Influencia de la amplitud de impulsos**

**Condiciones:** pH= 11; Concentración de DADPA =  $1\mu\text{g/mL}$ ; Concentración de  $\text{C}_8 = 10^{-5}\text{M}$ ; Tiempo de modificación = 15min; Tiempo de acumulación = 60s; Potencial de acumulación = -150mV; temperatura =  $10^\circ\text{C}$ ; Step = 3mV; Frecuencia = 120Hz

A la vista de los resultados obtenidos se deduce que para amplitudes de impulsos pequeñas existe una doble onda semejante a las encontradas al variar la frecuencia. Desdoblamiento que desaparece al aumentar la amplitud de impulsos por encima de 50mV, ya que aparece una única onda bien definida.

Dado que el proceso es adsorptivo, puesto de manifiesto en los estudios anteriores, cabe pensar que cuando se aplica una variación pequeña de la amplitud de impulsos se diferencia el aporte de sustancia electroactiva, entre la que está retenida en el modificador, por su interacción y a una distancia pequeña que permite la transferencia electrónica, y la que llega a la superficie del electrodo a través de los canales formados.

Cuando la amplitud de impulsos es superior a 50mV, se produce la oxidación conjunta de la especie electroactiva, tanto de la que está retenida como de la que llega a la



superficie electródica. Es por lo que se produce a su vez un incremento en el valor de la intensidad de corriente.

## 11.- Influencia de la concentración

De acuerdo con los estudios realizados anteriormente, tanto de las variables químicas como instrumentales, se ha llegado a la elección de las condiciones óptimas para la determinación de la 4,4'-diaminodifenilamina (DADPA), siendo las mismas:

**pH= 11; Temperatura = 10 C; Concentración de  $C_8=10^{-5}M$ ; Tiempo de modificación =15 min; Tiempo de acumulación =60s; Potencial de acumulación =-150mV; Step =2mV; Amplitud de impulsos =60mV; Frecuencia =200Hz**

Bajo estas condiciones se realizó el estudio de la influencia de la concentración de analito, DADPA, observándose una tendencia lineal al representar la variación de la intensidad de pico en función de la concentración de 4,4'-diaminodifenilamina (Figura 42), que se ajusta a la ecuación:

$$i_p(\mu A) = 0.11C(\mu g/mL)+0,20$$

$$R^2 = 0,995$$

y manteniéndose el potencial de pico casi constante, como puede comprobarse en la tabla XXXVIII.

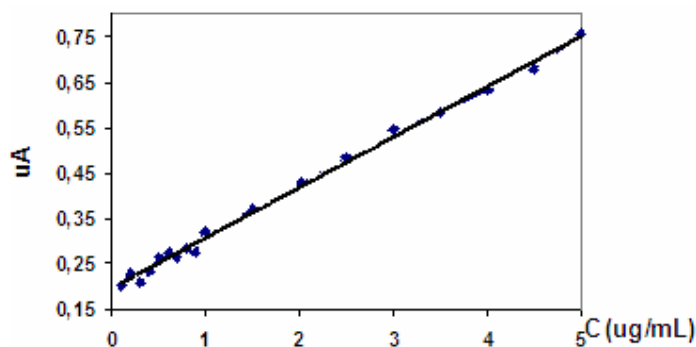


Figura 42

**Variación de la intensidad de onda frente a la concentración de DADPA**

Tabla XXVIII

C(ug/mL)	Ip(uA)	Ep(mV)
0,05	0,11	184
0,1	0,20	175
0,2	0,23	163
0,3	0,21	166
0,4	0,23	172
0,5	0,26	172
0,6	0,28	182
0,7	0,26	179
0,8	0,28	160
0,9	0,28	160
1,0	0,32	169
1,5	0,37	160
2,0	0,43	160
2,5	0,48	178
3,0	0,55	192
3,5	0,58	204
4,0	0,63	133
4,5	0,68	161
5,0	0,76	246

La recta de calibrado se encuentra comprendida entre los valores de concentración de 0.1 a 5.00  $\mu\text{g/mL}$ .

Dichos valores tienen una exactitud de 0.06 % (error relativo) y una precisión de 4.01% (desviación estándar relativa), calculados para una concentración de 0.8  $\mu\text{g/mL}$  y 10 medidas.

Los límites de detección y determinación son 0.025 y 0.54 ng respectivamente, viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.

## **APLICACIÓN**



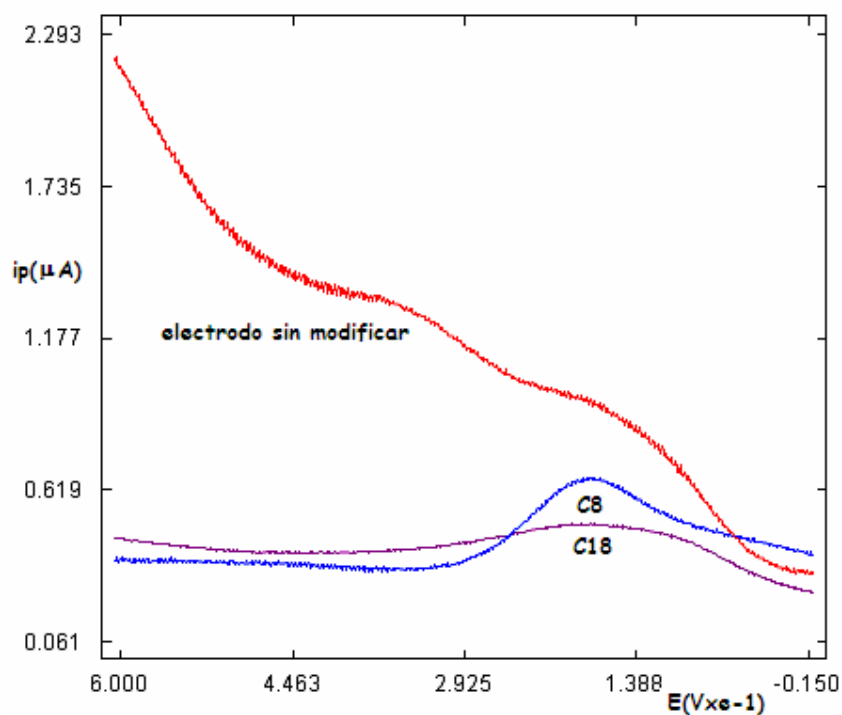
Los estudios previos han servido para la puesta a punto de un método de determinación electroquímica de diaminas aromáticas.

En este caso se ha llevado a cabo la determinación de la 4,4'-diaminodifenilamina (DADPA) en un agua residual y en un tinte de cabello comercial. Se ha elegido tinte para cabello de dos colores, rojo y negro debido a que la DADPA se encuentra como pigmento en los tintes de color negro; y el motivo por el que se ha utilizado un tinte de color rojo, es porque cuando la DADPA se encuentra en medio básico la disolución adquiere esta coloración roja

En los estudios realizados con estas tres muestras se ha observado que cuando el electrodo se encuentra sin modificar no aparece señal para ninguna de las tres muestras. En cambio, si se observa señal cuando el electrodo se encuentra modificado con C8 y C18.

Se ha utilizado para el tratamiento de las muestras y su análisis el procedimiento descrito al principio de esta memoria, donde se han resumido los procedimientos seguidos.

Cuando se pretende determinar el compuesto en aguas residuales, únicamente se observó señal cuando el electrodo se encuentra modificado con C8.



**Figura 43**  
**Señal del agua residual**

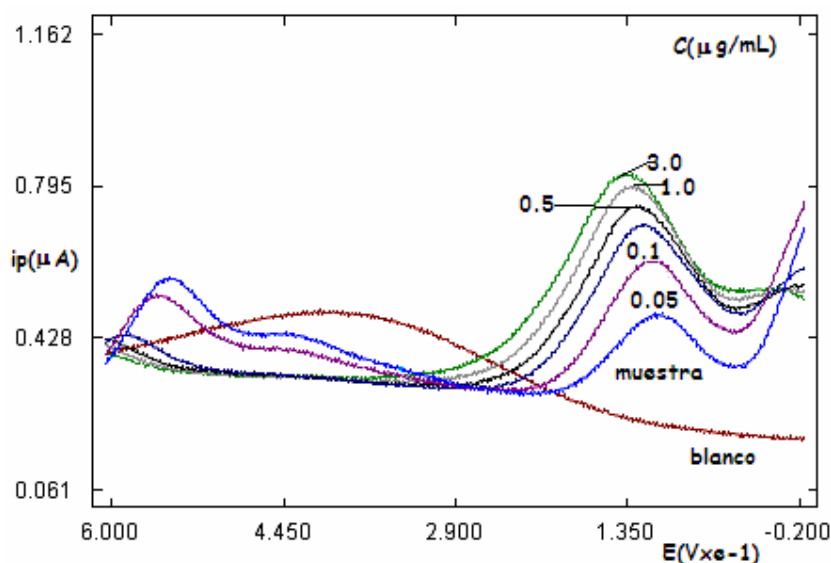
y en las siguientes condiciones de medida :

***pH =11; fuerza iónica =0.05M; temperatura =10<sup>º</sup> C; concentración de modificador =10<sup>-5</sup> M; tiempo de modificación =15 min; tiempo de acumulación =60 s; potencial de acumulación = -150 mV; step= 1 mV; amplitud de impulsos =20 mV; frecuencia =200 Hz***

Para su cuantificación se utiliza la metodología de adición estándar (figura 44), obteniéndose una concentración de DADPA en el agua utilizada de 4.75  $\mu\text{g/mL}$ , y ajustándose el calibrado a la ecuación de la recta:

$$I_p(\mu\text{A}) = 0.121C(\mu\text{g/mL}) + 0.27$$

$$R^2 = 0.992$$



**Figura 44**  
**Adición estándar de DADPA**

Para la determinación del compuesto en tinte para cabello de color negro, se observa señal cuando el electrodo se encuentra modificado tanto con C8 como con C18 en las condiciones de medida:

**Electrodo modificado con C18: pH =4; fuerza iónica =0.5M;  
temperatura =20° C; concentración de modificador =10<sup>-5</sup> M; tiempo de  
modificación =10 min; tiempo de acumulación =300 s; potencial de acumulación =  
200 mV; step= 3 mV; amplitud de impulsos =40 mV; frecuencia =200 Hz**

**Electrodo modificado con C8: pH =11; fuerza iónica =0.05M;  
temperatura =10° C; concentración de modificador =10<sup>-5</sup> M; tiempo de  
modificación =15 min; tiempo de acumulación =60 s; potencial de acumulación = -150  
mV; step= 1 mV; amplitud de impulsos =20 mV; frecuencia =200 Hz**

Los resultados por adición estándar unas concentraciones con las dos modificaciones son los siguientes:

- Modificación con C18: concentración de DADPA 6.59 μg/mL, ajustándose el calibrado linealmente a la recta con ecuación:

$$I_p(\mu A) = 0.158C(\mu g/mL) + 0.69$$

$$R^2 = 0.995$$

- Modificación con C8:  $5.18\mu\text{g/mL}$ , ajustándose el calibrado linealmente a la recta con ecuación:

$$I_p(\mu\text{A}) = 0.0076C(\mu\text{g/mL}) + 0.048$$

$$R^2 = 0.991$$

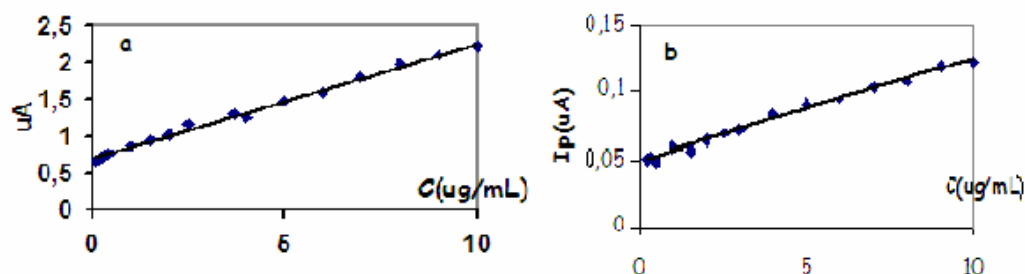


Figura 45

Adición estándar para DADPA con tinte de cabello negro

a) modificación con C18

b) modificación con C8

En el caso del tinte de color rojo, únicamente se ha obtenido señal para la modificación con 1-octanotiol, dado que la señal a pH 11, pH al que se desarrolla el color rojo, únicamente aparece cuando el electrodo ha sido modificado con este modificador, siendo las condiciones de medida:

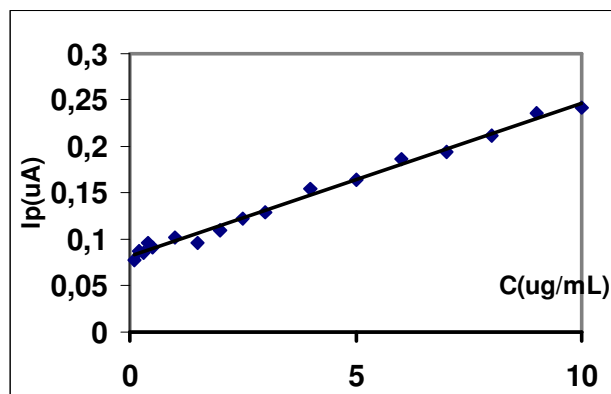
**Condiciones:** pH =11; fuerza iónica =0.05M; temperatura =10<sup>9</sup> C; concentración de modificador =10<sup>-5</sup> M; tiempo de modificación =15 min; tiempo de acumulación =60 s; potencial de acumulación = -150 mV; step= 1 mV; amplitud de impulsos =20 mV; frecuencia =200 Hz

La concentración obtenida a partir del método de adición estándar es  $19.71\mu\text{g/mL}$ , ajustándose a la ecuación de la recta:

$$I_p(\mu\text{A}) = 0.0165C(\mu\text{g/mL}) + 0.082$$

$$R^2 = 0.992$$





**Figura 46**

**Adición estándar para DADPA con tinte de cabello rojo y modificación con C8**

En todos los caso los valores de concentración medidos se encuentran dentro de los admitidos por la Legislación Europea, por lo que los procedimientos desarrollados pueden ser aplicados en un control de este producto puesto que se hace una medida directa permitiendo su aplicación inmediata a cualquier estudio de screening.



**4,4'-oxidianilina**



Se continúa el estudio de la serie de anilinas aromáticas seleccionadas, todas ellas potencialmente cancerígenas y utilizadas en procesos industriales, pudiendo aparecer como residuos tanto en productos manufacturados como en aguas residuales.

Al objeto de proponer metodologías para su determinación, se analizan los diversos factores que influyen en el comportamiento electroquímico de la 4,4'-oxidianilina (ODA); utilizando para ello un electrodo de oro sin modificar y sucesivamente, modificado con  $C_8$  y  $C_{18}$ .

## **Estudios con un electrodo de oro sin modificar**

Se realizan los estudios encaminados a conocer el comportamiento electroquímico de la 4,4'-oxidianilina, para lo cual se analizan todos los parámetros que puedan aportar información sobre las posibles reacciones Redox que se puedan producir sobre un electrodo de oro.

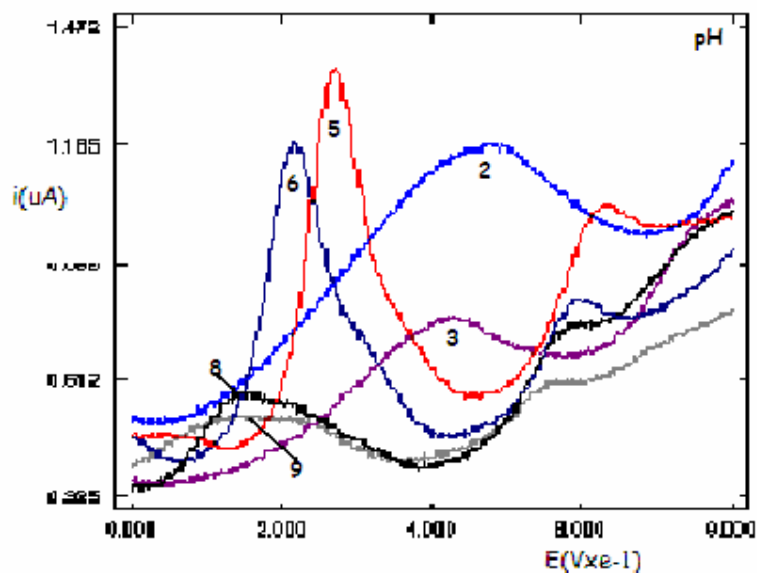
Se han llevado a cabo estos estudios, puesto que la bibliografía consultada indica que no existe ninguna publicación en la que se hayan realizado estudios electroquímicos, ni electroanalíticos de dicho compuesto (ODA).

### **1.- Influencia del pH**

Con objeto de comprobar el comportamiento electroquímico en diferentes medios se estudia, en primer lugar, la respuesta a diferentes valores de pH en un electrolito soporte utilizando tampón fosfato para los pH 2, 3, 6, 7, 8, 10, 11 y 12; tampón acético/acetato para pH 4 y 5; y para pH 9 se empleó tampón  $HBO_2/HBO_2^-$ .

En todos los casos se espera un tiempo de sesenta segundos antes de realizar el barrido de potencial con el fin de condicionar el sistema.

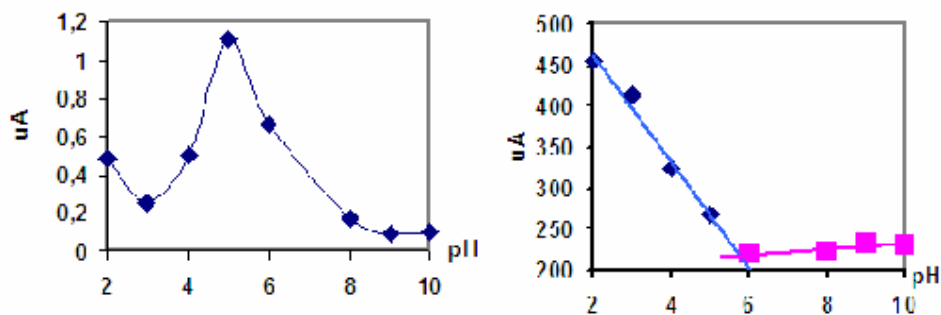
La figura 47 muestra los voltagramas en voltametría de onda cuadrada obtenidos para los diferentes pH, donde puede observarse la aparición de dos ondas definidas.



**Figura 47**  
**Influencia del pH**

**Condiciones:** Concentración de ODA =  $1 \mu\text{g/mL}$ ; Tiempo de acumulación = 60s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^\circ\text{C}$ ; Step = 1mV; Amplitud de impulsos = 20mV; Frecuencia = 200Hz

En las siguientes figuras (figura 48 a y 48 b) se puede ver como varían tanto la intensidad como el potencial para los diferentes valores de pH para la primera onda.



**Figura 48**

**a)** Intensidad de pico frente a pH

**b)** Potencial de pico frente a pH

En la figura 47 se puede observar la oxidación de la ODA en voltametría de onda cuadrada, encontrándose las ondas claramente definidas para valores de pH comprendidos entre 2 y 8, siendo la que se obtiene a pH 5 la mejor definida, la de mayor intensidad.

La figura 48.b muestra que la variación de potencial de pico presenta dos tramos rectos con un cambio de pendiente a pH 5, ajustándose cada tramo a las siguientes ecuaciones:

Tramo comprendido entre pH 2 y 5

$$E_1 = 0,43\text{pH} - 1,08$$

Para valores superiores a pH 5

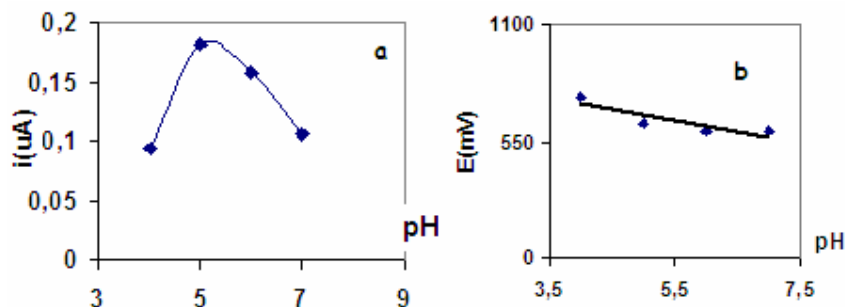
$$E_2 = -0,15\text{pH} + 1,48$$

Siendo el punto de corte de las dos rectas a pH 6, indicando que hay una constante de disociación ácido-base para la 4,4'-oxidianilina a este valor de pH.

Las figuras 49 a y 49 b representan la variación de la intensidad y el potencial de la segunda onda que aparece en los voltagramas frente al pH. La figura 49 b muestra la variación del potencial frente al pH; ajustándose a la recta:

$$E_p(\text{mV}) = -52,4\text{pH} + 938,2$$

La intensidad de pico tiene su máxima intensidad a pH 5, pero dicha onda no aparece a valores de pH muy alcalinos y muy ácidos



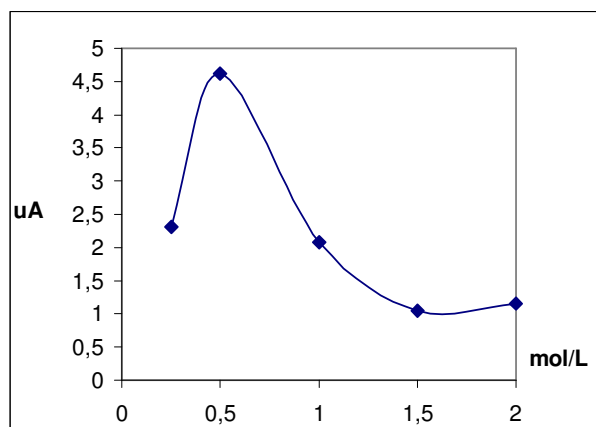
**Figura 49**

**Variación de la intensidad y el potencial frente al pH de la onda 2**

## 2.-Fuerza iónica

El estudio se ha llevado a cabo dentro de un rango de fuerzas iónicas comprendido entre 0.25 y 1.5 mol/L, utilizando como electrolito soporte tampones de acético/acetato.

Como se puede ver en la figura 50 y en la tabla XXIX, la fuerza iónica más adecuada para llevar a cabo los estudios corresponde a 0.5mol/L, ya que es la que nos proporciona la segunda señal más intensa, además de ser la que se encuentra mejor definida, siendo el pico obtenido el más estrecho, es decir, con menor anchura de semionda. Mientras que para una fuerza iónica de 0.1mol/L, la onda obtenida se encuentra muy distorsionada. En cuanto al potencial, este apenas sufre variación, manteniéndose su valor prácticamente constante, como puede observarse en la tabla XXIX.



**Figura 50**

### Variación de la intensidad de onda frente a la fuerza iónica

**Condiciones:** pH=5; Concentración de ODA =1 µg/mL; Tiempo de acumulación =60s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =13°C; Step =1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

**Tabla XXIX**

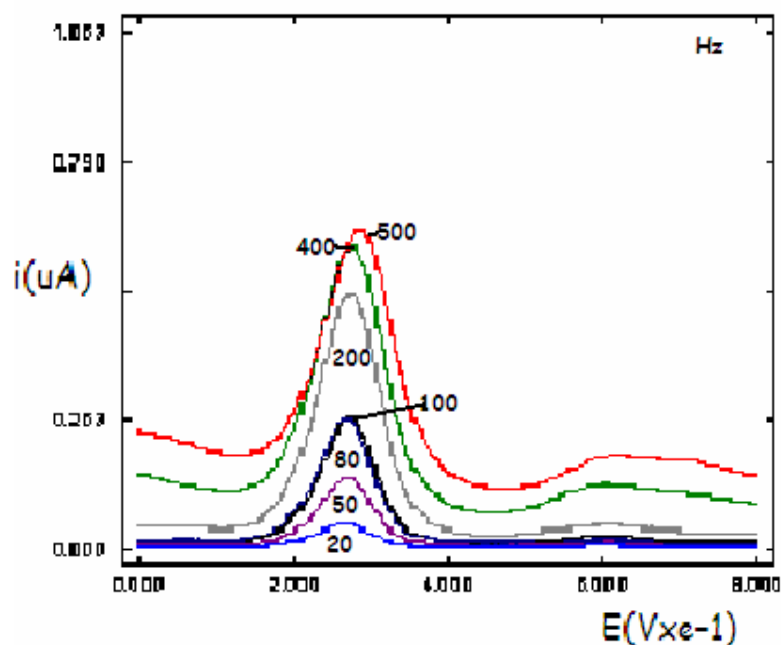
F iónica(mol/L)	Ip(uA)	Ep(mV)
0,1	8,21	349
0,25	2,31	364
0,5	4,62	314
1,0	2,075	384
1,5	1,049	366
2,0	1,16	276



## Variables instrumentales

### 3.-Influencia de la frecuencia

Una de las variables instrumentales que caracteriza a la voltametría de onda cuadrada es el estudio de la frecuencia de onda, cuyo estudio se ha llevado a cabo con la misma metodología que se empleó en la determinación del pH más adecuado. Para este estudio se elige el pH 5, que es donde se encuentra mejor definida la onda (Fig 47).

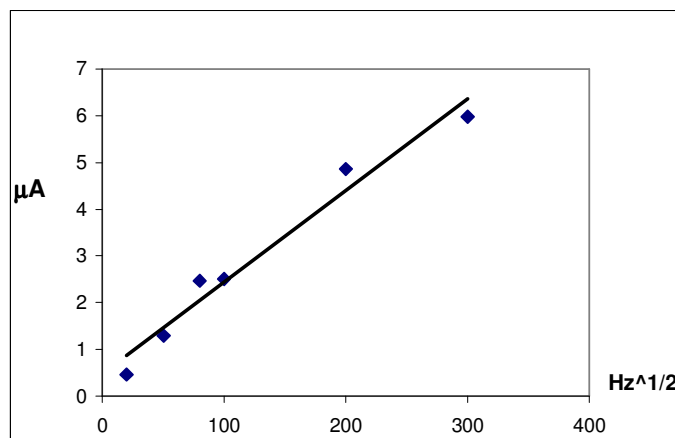


**Figura 51**  
**Influencia de la frecuencia**

**Condiciones:** Concentración de ODA = 1  $\mu\text{g/mL}$ ; pH = 5 Acético/acetato; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura = 13°C; Tiempo de acumulación = 60s; Step = 1mV; Amplitud de impulsos = 20mV

La figura 52 y la Tabla XXX muestran la variación de las intensidades de pico frente a la frecuencia, ajustándose esta variación a la ecuación:

$$i_p(\mu\text{A}) = 0,02f^{1/2}(\text{Hz}) + 0,47$$

**Figura 52**

**Variación de la intensidad de pico frente a la frecuencia**

El potencial de pico mantiene prácticamente el mismo valor al modificar la frecuencia, lo que nos indica que estamos ante un proceso reversible electroquímicamente y controlado por difusión.

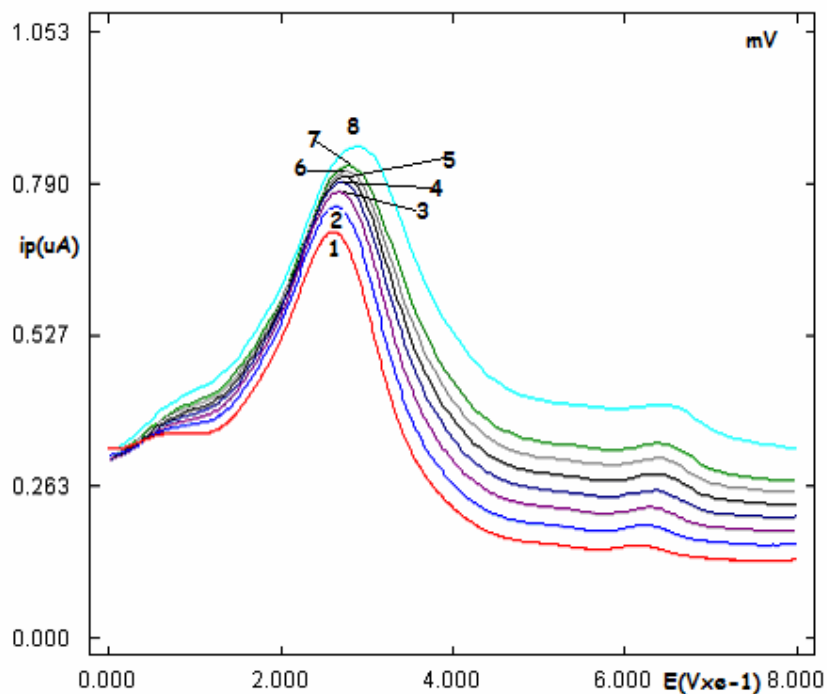
Como ya se dijo anteriormente, en la figura 51 que los pico más intensos y estrechos corresponden a los valores de frecuencia de 200 y 500Hz, los cuales tienen unas intensidades muy similares, pero el que posee la onda con la anchura de semipico menor es el que corresponde a la frecuencia de 200Hz, por tanto, este valor es el que elegiremos como óptimo, pues es el que nos dará mayor selectividad.

**Tabla XXX**

Hz	$I_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
20	0,46	263
50	1,29	269
80	2,46	268
100	2,51	273
200	4,86	273
300	5,98	273
600	7,060	266
700	6,31	270
900	5,61	267
1000	4,79	275

#### 4.-Influencia del Step (escalón de potencial)

El procedimiento seguido es el mismo que en el caso de la frecuencia, es decir, se mantienen constantes todas las variables a excepción de la que corresponde al step, el cual se modificará dentro de un rango de valores comprendido entre 1 y 10mV. Siendo las condiciones bajo las que se llevó a cabo este estudio las que aparecen en la figura 53.



**Figura 53**  
**Influencia del step**

**Condiciones:** Concentración de ODA =1  $\mu\text{g/mL}$ ; pH =5; Tiempo de acumulación =60s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =13°C; Amplitud de impulsos =20mV; Frecuencia =200Hz

En el intervalo estudiado, que corresponde a velocidades de barrido comprendidas entre 200 y 2000mV/s, la diferencia de intensidades se encuentra entre 4,729 y 5,4  $\mu\text{A}$  respectivamente; siguiendo una tendencia lineal que se ajusta a la raíz cuadrada según la ecuación:

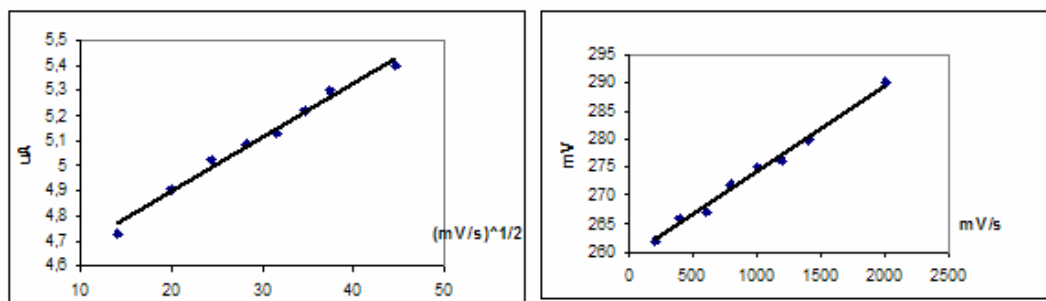
$$ip(\mu\text{A})=0.022v^{1/2}(\text{mV/s})+4.46$$

La anchura de semionda aumenta notablemente, mientras que el potencial de pico se mantiene prácticamente constante, encontrándose una ligera variación que se ajusta linealmente a la ecuación:

$$E(\text{mV}) = 0,02v(\text{mV/s}) + 259,05$$

Esta ligera variación en el potencial de pico, puede ser debida a un aumento de la resistencia del electrodo y a que se produce un aumento de 100mV/s en la velocidad de barrido.

Encontrándose éste reflejado en la representación gráfica de la intensidad y el potencial de pico frente a la velocidad de barrido, expresada de mV/s, cuyos datos aparecen recogidos en la tabla XXXI.



**Figura 54**

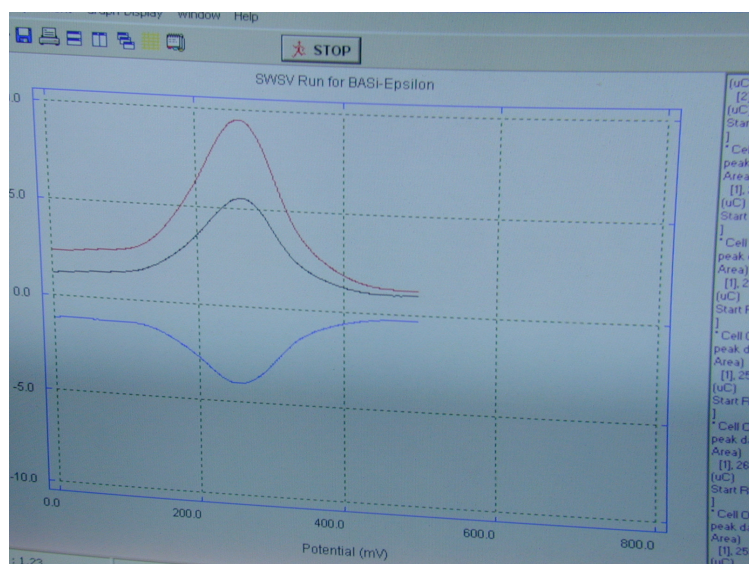
**Variación de la intensidad y potencial de pico frente a la velocidad de barrido**

**Tabla XXXI**

mV	mV/s	Ip(uA)	Ep(mV)
1	200	4,73	262
2	400	4,91	266
3	600	5,026	267
4	800	5,084	272
5	1000	5,13	275
6	1200	5,22	276
7	1400	5,30	280
10	2000	5,40	290

Con objeto de comprobar la reversibilidad del sistema, se registraron los voltagramas de onda cuadrada para los barridos anódicos y catódicos a pH 5 representados en la figura 54, donde se incluye también la onda total.

La fotografía de la figura 55, representa el voltagrama de onda cuadrada en su barrido en la medida de parte anódica y catódica y la onda total a pH 5. Se observa que el potencial anódico y catódico son prácticamente iguales y las intensidades anódicas y catódicas tienen el mismo valor, lo que nos indica que estamos frente a un sistema electroquímicamente reversible.



**Figura 55**

**Fotografía de la evolución de las ondas anódica y catódica en voltimetría de onda cuadrada a pH 5 en medio acético/acetato**

**Condiciones:** Concentración de ODA=  $1\mu\text{g/mL}$ ; tiempo de acumulación=60s; potencial de acumulación= 0mV; temperatura=13°C; step= 1mV; amplitud de impulsos= 20mV; frecuencia= 200Hz

## 5.-Estudio de la Velocidad de barrido en voltametría cíclica

El estudio de la velocidad de barrido se realizó con el propósito de establecer el mecanismo de oxidación de la 4,4'-oxidianilina.

En la figura 57 está representado uno de los voltagramas realizados, analizándolo encontramos que las intensidades de pico anódicas y catódicas son prácticamente iguales, ya que la diferencia de potenciales anódico y catódico es de 0.03V.

La intensidad de pico anódica varía al modificar la velocidad de barrido según las ecuaciones:

$$\text{Anódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0,0003v(\text{mV/s})^{1/2} + 0,20$$

$$\text{Catódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0,0009v(\text{mV/s})^{1/2} + 0,04$$

Como aparece reflejado en la figura 56 y en la tabla XXXII

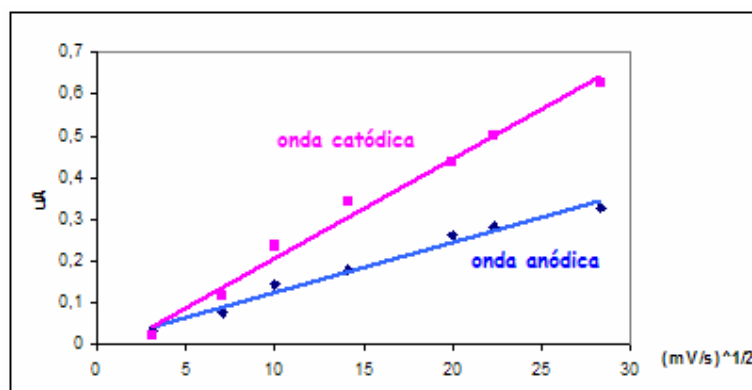


Figura 56.

Variación de la intensidad de pico respecto a la velocidad de barrido

Tabla XXXII

onda anódica			onda catodica		
mV/s	uA	mV	mV/s	uA	mV
10	0,034	218	10	0,023	262
50	0,077	219	50	0,11	268
100	0,14	220	100	0,23	273
200	0,18	211	200	0,34	282
400	0,26	208	400	0,43	284
500	0,28	199	500	0,50	287
800	0,32	152	800	0,62	290

El potencial de pico se mantiene constante al variar la velocidad de barrido.

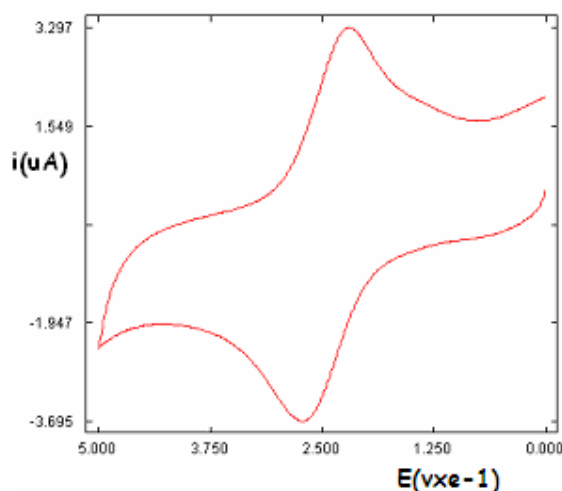


Figura 57

Ciclovotagrama de ODA a 100mV/s en medio acético.

**Condiciones:** pH=5, concentración ODA=1ug/mL, temperatura =13 °C potencial inicial=0mV, potencial final=0mV, switching potencial=500mV

El análisis de los datos obtenidos indica que el proceso es reversible y controlado por difusión. Teniendo en cuenta este comportamiento y los datos bibliográficos de su comportamiento en otro material electródico se puede establecer el siguiente mecanismo de reacción:

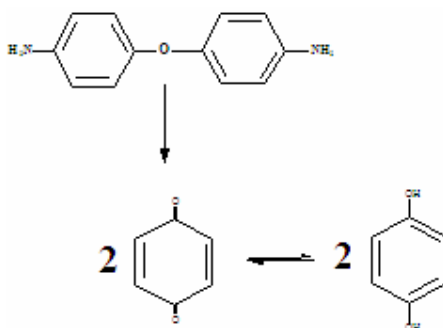


Figura 58.

Mecanismo de oxidación de 4,4'-oxidianilina

Se produce la ruptura y formación del compuesto quinónico en una etapa, observándose en el proceso de reducción la formación de la hidroquinona.

## 6.- Influencia de la amplitud de impulsos

Se estudia la influencia de la amplitud de impulsos aplicando, para el crecimiento de la onda cuadrada, las condiciones utilizadas en los estudios anteriores. Se obtienen los voltogramas de la figura 59 a

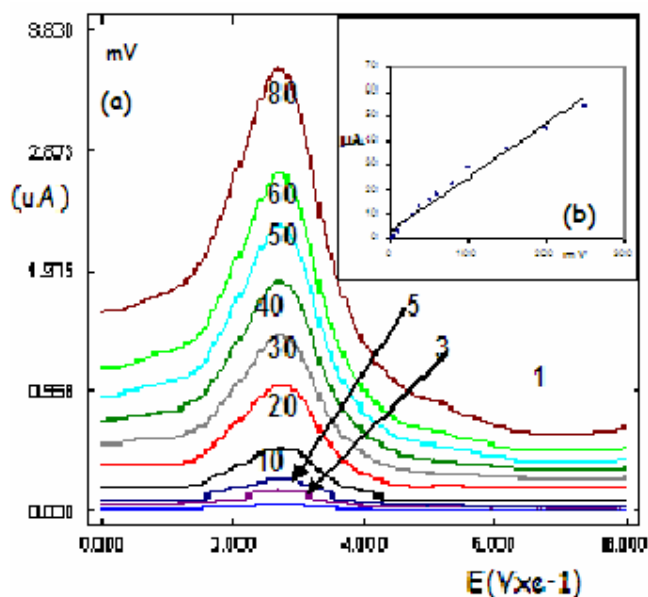


Figura 59

### Influencia de la amplitud de impulsos

**Condiciones:** Concentración de ODA = 1  $\mu\text{g/mL}$ ; pH = 5; Tiempo de acumulación = 60s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura = 13°C ; Step=1mV; Frecuencia = 200Hz

Como se puede observar en la figura 59 b, la intensidad de pico aumenta linealmente según la ecuación:

$$i_p(\mu\text{A}) = 0.22\Delta E(\text{mV}) + 3.06$$

El potencial de pico se mantiene prácticamente constante, como puede verse en la tabla XXXIII.



**Tabla XXXIII**

<b>Amplitud(mV)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>1</b>	0,41	268
<b>3</b>	1,13	269
<b>5</b>	1,86	271
<b>10</b>	3,51	272
<b>20</b>	7,26	273
<b>30</b>	9,82	271
<b>40</b>	13,22	270
<b>50</b>	16,26	271
<b>60</b>	18,85	267
<b>80</b>	23,096	269
<b>100</b>	29,0013	268
<b>150</b>	37,079	263
<b>200</b>	45,43	258
<b>250</b>	54,58	251

Se elige como amplitud de impulsos 20 mV, debido a una solución de compromiso, según la cual puede utilizarse cualquier amplitud de impulso dentro del rango de 20 a 80 mV. Presentado amplitudes menores intensidades menores y amplitudes superiores provocan un ensanchamiento de pico.

## 7.- Influencia de la concentración

Las condiciones óptimas para las distintas variables, tanto químicas como instrumentales, fueron:

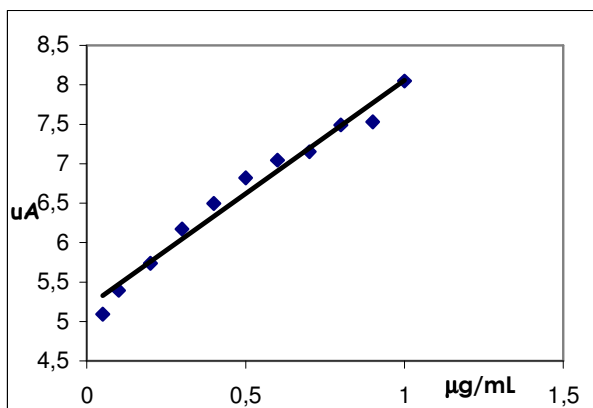
***pH =5; tiempo de acumulación =20s; Tiempo de reposo= 10s; Potencial de acumulación =0mV; Potencial inicial=0mV;Potencial final=800mV; Step =1mV; Amplitud de impulsos = 20mV; Frecuencia=200Hz***

Establecidas estas condiciones, se realiza el estudio de la influencia de la concentración, en la intensidad de pico se observa una tendencia lineal.

Una vez representada gráficamente la intensidad frente a la concentración de ODA se obtuvo la recta de calibrado de la figura 60, siendo sus datos los que aparecen en la tabla XXXIV.

**Tabla XXXIV**

<b>C(ug/mL)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>0,05</b>	5,096	270
<b>0,1</b>	5,39	261
<b>0,2</b>	5,74	260
<b>0,3</b>	6,17	259
<b>0,4</b>	6,49	257
<b>0,5</b>	6,82	257
<b>0,6</b>	7,045	257
<b>0,7</b>	7,15	259
<b>0,8</b>	7,49	255
<b>0,9</b>	7,53	257
<b>1,0</b>	8,046	255
<b>1,5</b>	8,012	255
<b>2,0</b>	8,070	254
<b>2,5</b>	8,069	257
<b>3,0</b>	7,84	256



**Figura 60**  
**Variación de la intensidad frente a la concentración**

Siendo la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación:

$$i_p(\mu A) = 2,88(\mu g/mL)C + 5,18$$
$$R^2 = 0,993$$

Esta recta se encuentra comprendida entre los valores de concentración 0.05 a 1.0 µg/mL, ya que a valores superiores se desvía de la linealidad.

Dichos valores tienen una exactitud de 0.011 % (error relativo) y una precisión de 3.42% (desviación estándar relativa), calculados para una concentración de 0.8 µg/mL y 10 medidas.

Los límites de detección y determinación son 0.077 y 0.26 µg/mL, viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.



## **Estudios con el electrodo de oro modificado**



## Estudios con el electrodo modificado con C18

### 1.-Concentración del modificador

En primer lugar se estudia la influencia de la concentración del modificador en la oxidación electroquímica de la 4,4'-oxidianilina.

El modificador es adsorbido en la superficie del electrodo creando unos canales de acceso restringido a éste, cuyo tamaño depende del número de moléculas de modificador adsorbidas. Es decir, la acción del modificador consiste en la creación de una barrera física a la superficie del electrodo ya que disminuye la superficie electroactiva del mismo y por tanto, se dificulta la oxidación electroquímica del 4,4'-diaminodifenil éter. El rango de concentraciones de modificador con que se ha efectuado este estudio se encuentra comprendido entre  $10^{-3}$  mol/L y  $10^{-6}$  mol/L.

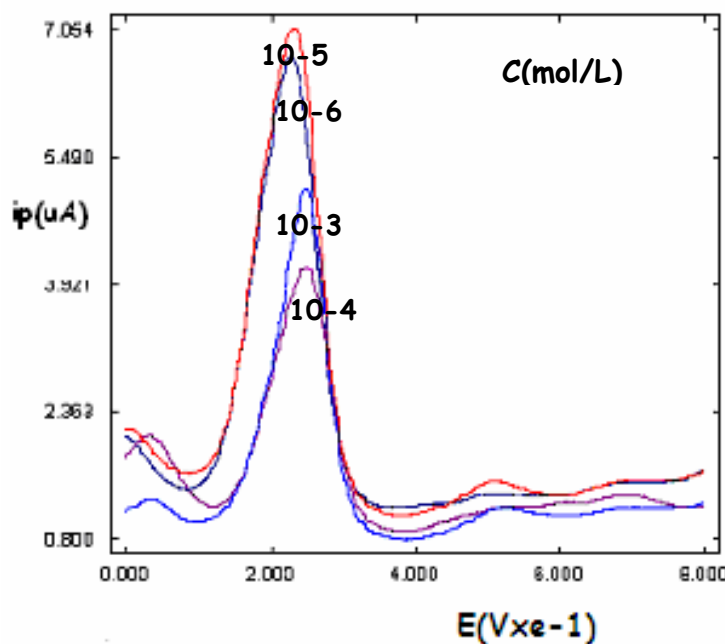


Figura 61

#### Influencia de la concentración del modificador

**Condiciones:** pH=5, Concentración de ODA =  $1 \mu g/mL$ , Tiempo de modificación = 5min, Tiempo de acumulación = 20s, Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^\circ C$ ; Step = 1mV, Amplitud de impulsos = 20mV, Frecuencia = 200Hz

En la figura 61 se puede observar que la concentración más adecuada de di-n-octadecil disulfuro es de  $10^{-5}$  mol/L, ya que es la que proporciona la señal mejor definida y con la menor anchura de semionda; como puede verse en la figura 61.

**Tabla XXXV**

<b>conc (mol/L)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>0,001</b>	4,19	248
<b>0,0001</b>	3,083	250
<b>0,00001</b>	5,70	233
<b>0,000001</b>	5,41	228

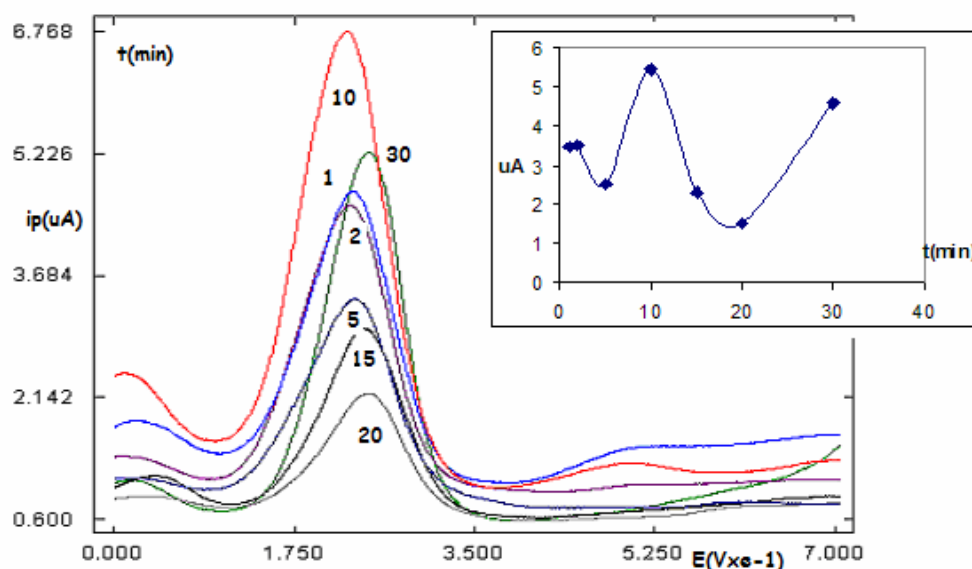
Es decir que bajo una concentración de modificador de  $10^{-5}$  mol/L se obtienen los canales de acceso restringido hacia la superficie del electrodo de tamaño más adecuado para la oxidación electroquímica de la 4,4'-oxidianilina.



## 2.- Influencia del tiempo de modificación

Este estudio pretende determinar el periodo de tiempo más adecuado, durante el cual tienen que estar en contacto la disolución de modificador y el electrodo de trabajo, para obtener la mejor respuesta.

La figura 62, muestra cómo varía la señal del electrodo en función del tiempo, como puede observarse tanto en la figura, como en la tabla XXXVII el potencial se mantiene prácticamente constante al variar el tiempo de modificación.



**Figura 62**  
**Influencia del tiempo de acumulación**

**Condiciones:** pH=5, Concentración de ODA =  $1\mu\text{g/mL}$ , Concentración de C18 =  $10^{-5}\text{M}$ , Tiempo de acumulación=20s, Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^{\circ}\text{C}$ ; Step = 1mV, Amplitud de impulsos = 20mV, Frecuencia = 200Hz

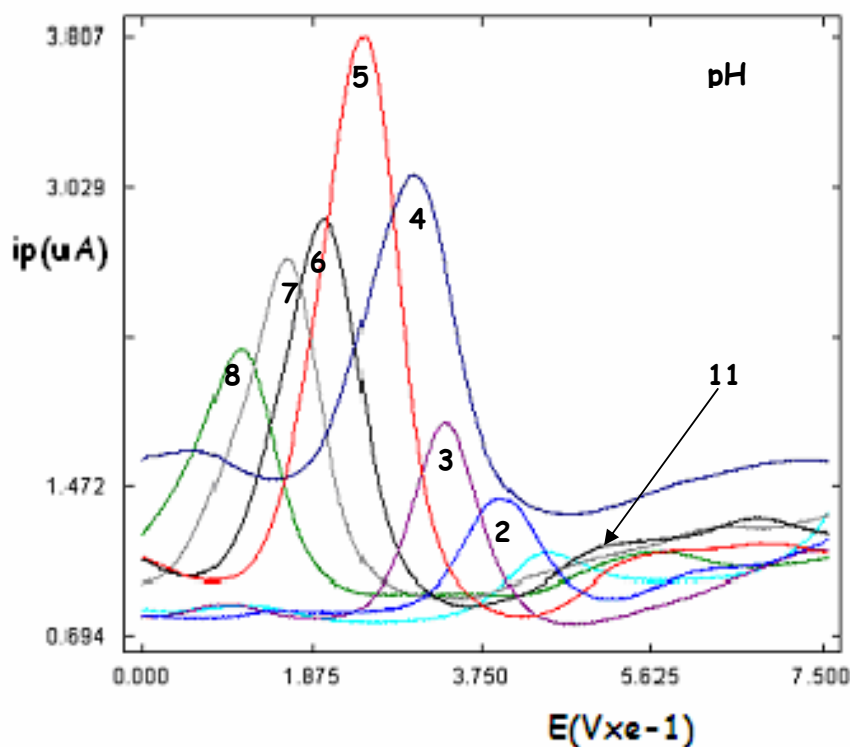
**Tabla XXXVI**

t(min)	Ip(uA)	Ep(mV)
1	3,49	234
2	3,53	229
5	2,50	234
10	5,45	226
15	2,29	244
20	1,52	246

La variación de la intensidad de pico con el tiempo de modificación del electrodo pone de manifiesto que la especie electroactiva llega a la superficie del electrodo seleccionado por los canales producidos, y su acumulación por retención en el modificador, en las proximidades del electrodo. Cuando el tiempo de modificación es superior a 10 minutos la intensidad disminuye debido, posiblemente, a una disminución de la superficie activa del electrodo por aumento de las moléculas de modificador depositadas en la superficie del electrodo. La reacción electroquímica observada puede deberse a las moléculas retenidas por el modificador y que se encuentran en las proximidades de la zona de intercambio del electrodo. Este intercambio electrónico posiblemente sea debido a un efecto tunel.

### 3.- Influencia del pH

Este estudio se ha realizado dentro de un rango de pH que se encuentra comprendido entre pH 2 y 11, como en los estudios anteriores, utilizando es todos los casos disoluciones tamponadas.



**Figura 63**  
**Influencia del pH**

**Condiciones:** Concentración de ODA =1μg/mL, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación=5 min, Tiempo de acumulación =20s, Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =13 °C; Step =1mV, Amplitud de impulsos =20mV, Frecuencia =200Hz

En la figura 63 están representas las ondas de oxidación de la ODA en voltametría de onda cuadrada, que se encuentran claramente definidas, siendo la que se obtiene a pH 5 la de mayor intensidad.

En las figuras 64 a y 64 b, obtenidas a partir de los datos de la tabla XXXVI, se puede ver como varían tanto la intensidad como el potencial de pico para los diferentes valores de pH, representando el potencial de pico frente al pH (figura 64.b) en el tramo comprendido entre 2 y 8 se ajusta a la ecuación:

$$E(\text{mV}) = -46,97\text{pH} + 483,8$$

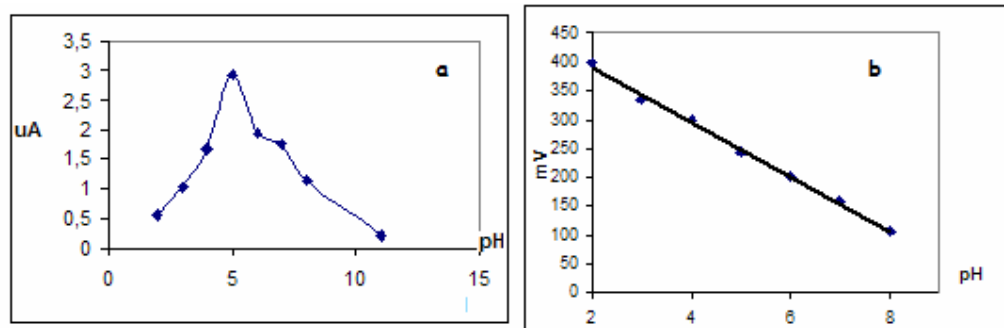


Figura 64

a) Intensidad de pico frente a pH

b) Potencial de pico frente a pH

Tabla XXXVII

pH	$I_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
2	0,54	397
3	1,02	335
4	1,67	299
5	2,92	243
6	1,93	201
7	1,76	160
8	1,15	108
11	0,22	444

## 5.- Influencia del tiempo de acumulación

El estudio del tiempo de acumulación y si ésta se produce, permitirá aumentar la sensibilidad y así poder determinar nuestro compuesto en concentraciones más bajas.

El estudio se realiza manteniendo el potencial a un valor fijo, 0mV, y modificando el tiempo, encontrándose siempre la disolución con una agitación constante.

En la figura 65 se puede ver que la mejor señal se obtiene para un tiempo de acumulación es 90 segundos, ya que es cuando se obtiene el pico más intenso y también con la menor anchura de semipico.

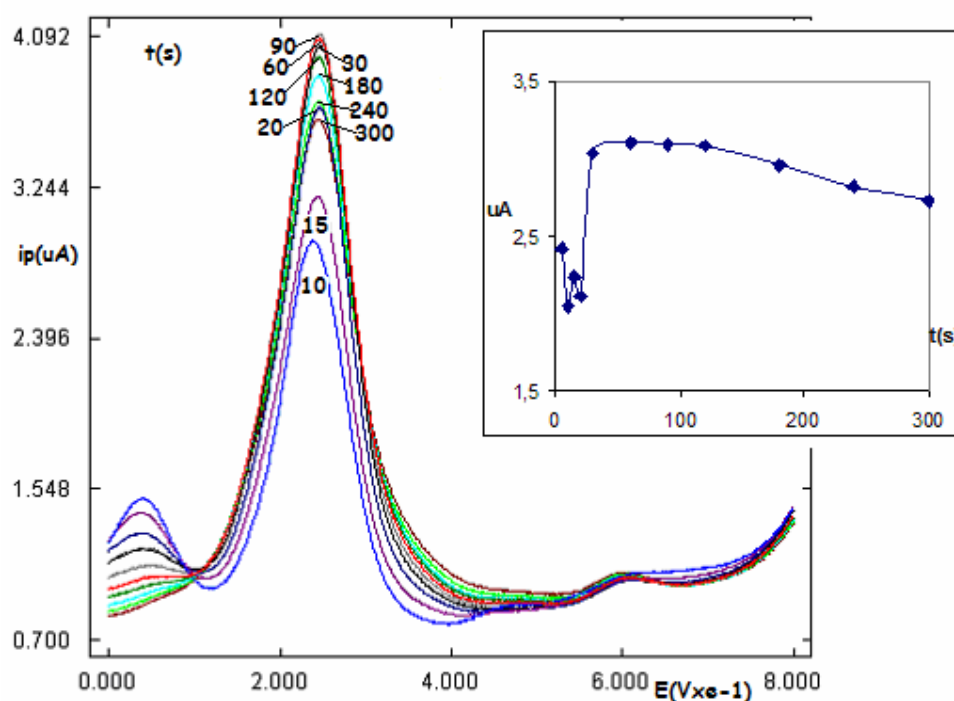


Figura 65

### Variación de la intensidad de onda frente al tiempo de acumulación

**Condiciones:** pH=5, Concentración de ODA =  $1 \mu g/mL$ , Concentración de C18 =  $10^{-5} M$ , Tiempo de modificación = 5 min, Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^\circ C$ , Step = 1mV, Amplitud de impulsos = 20mV, Frecuencia = 200Hz

Las respuestas encontradas para valores de tiempo de acumulación comprendidos entre 90 y 300 segundos son prácticamente iguales, lo que es indicativo de que se alcanza la saturación del electrodo, por lo que elegimos 90 segundos como tiempo de acumulación para estudios posteriores.

**Tabla XXXVIII**

<b>t(s)</b>	<b>Ip(uA)</b>
<b>5</b>	2,41
<b>10</b>	2,04
<b>15</b>	2,23
<b>20</b>	2,10
<b>30</b>	3,03
<b>60</b>	3,10
<b>90</b>	3,09
<b>120</b>	3,08
<b>180</b>	2,96
<b>240</b>	2,82
<b>300</b>	2,73

La modificación del electrodo cambia notablemente la curva de adsorción de la ODA, comparando con el electrodo desnudo, también pueden apreciarse las propiedades de retención del C18, pues mantiene la capacidad de adsorción al aumentar el tiempo de acumulación.

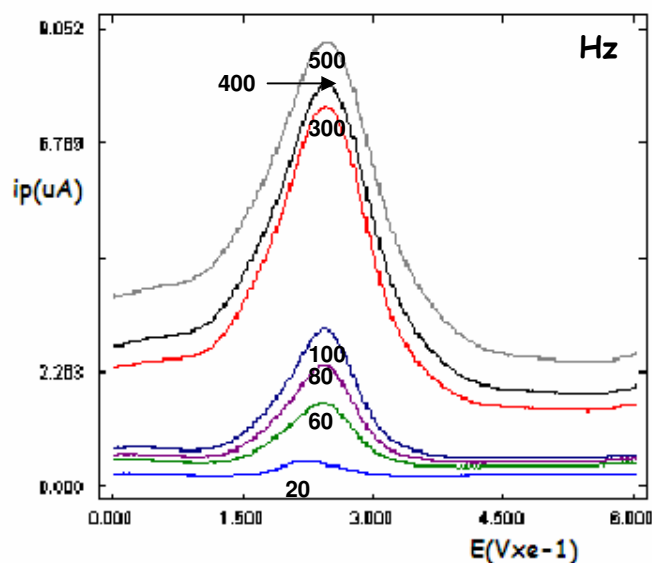
Analizando la Tabla XXXVIII, se observa que para un tiempo de acumulación de 5 segundos se obtiene la mayor quimiadsorción; lo cual es lógico, pues disminuye la superficie activa del electrodo de oro como consecuencia de la modificación. Mientras que a tiempos de acumulación mayores aumenta la intensidad de la señal debido al aumento de la fisisorción en el C18.

## Variables instrumentales

### 5.- Influencia de la frecuencia

El estudio de las variables instrumentales se ha llevado a cabo con la misma metodología que se empleó en la determinación del pH más adecuado, el cual es 5.

En la figura 64 se encuentran recogidos algunos de los voltagramas obtenidos.

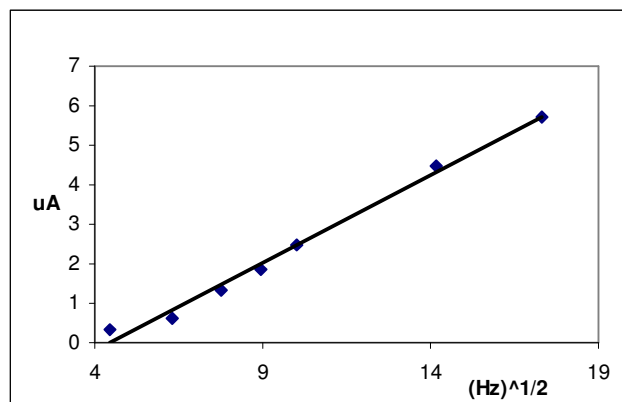


**Figura 66**  
**Influencia de la frecuencia**

**Condiciones:** pH=5, Concentración de ODA =  $1\mu\text{g/mL}$ , Concentración de C18 =  $10^{-5}\text{M}$ , Tiempo de modificación = 5 min, Tiempo de acumulación = 20s, Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^{\circ}\text{C}$ , Step = 1mV, Amplitud de impulsos = 20mV

Analizando estos datos y teniendo en cuenta las distintas formas de transferencia de masa, encontramos que la variación de la frecuencia con respecto a la intensidad de pico sigue una tendencia lineal, ajustándose a la raíz cuadrada, siendo la ecuación:

$$i_p(\mu\text{A}) = 0,44f(\text{Hz})^{1/2} - 1,97$$

**Figura 67****Variación de la intensidad de pico frente a la frecuencia**

Lo que indica que la oxidación electroquímica tiene lugar, fundamentalmente, a través de un proceso de difusión.

El potencial de pico, como puede verse en la tabla XXXIX, mantiene el mismo valor al modificar la frecuencia, lo que indica que el proceso es electroquímicamente reversible.

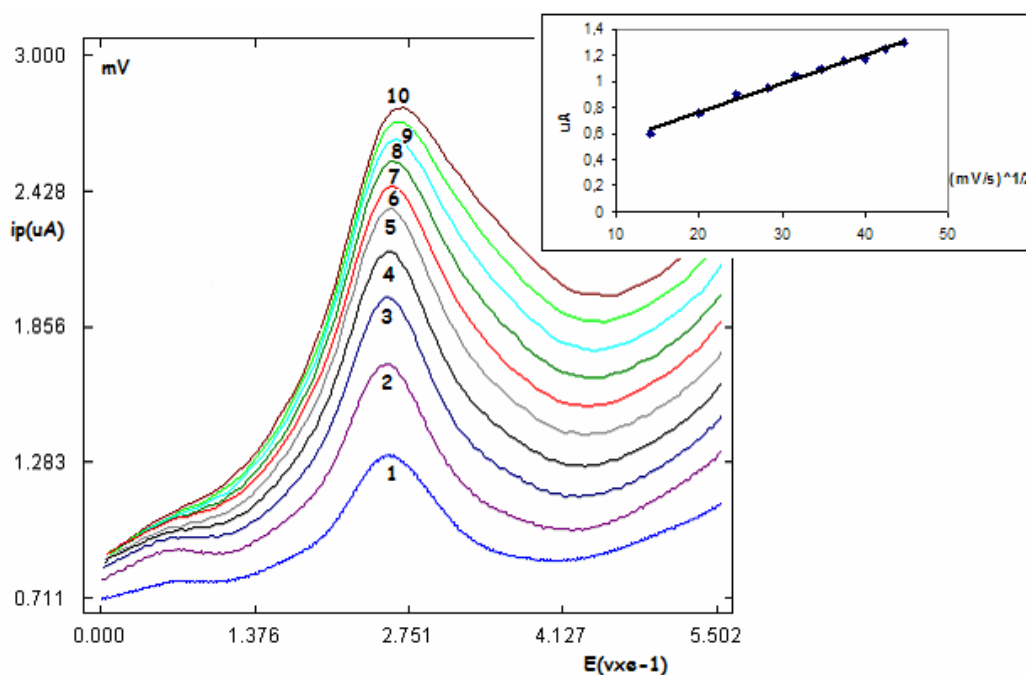
**Tabla XXXIX**

Hz	Ip(uA)	Ep(mV)
20	0,33	226
40	0,63	240
60	1,33	237
80	1,87	244
100	2,46	245
200	4,46	246
300	5,72	246
400	5,59	245
500	5,59	248
600	5,34	247
700	4,87	246
800	4,35	245
900	3,76	248
1000	3,21	247



## 6.- Influencia del Step (escalón de potencial)

El procedimiento a seguir es el mismo que en el caso de la frecuencia, esto es, se mantienen constantes todas las variables a excepción de la que corresponde al step, que se modifica dentro de un rango de valores comprendido entre 1 y 10mV. El intervalo estudiado corresponde a velocidades de barrido comprendidas entre 200 y 2000mV/s, encontrándose una variación de la intensidad de pico entre 0.35 y 1.012  $\mu\text{A}$  respectivamente. La anchura de semipico (figura 68) aumenta notablemente, mientras que el potencial de pico se mantiene prácticamente constante.



**Figura 68**  
**Influencia del step**

**Condiciones:** pH=5, Concentración de ODA =  $1\mu\text{g/mL}$ , Concentración de C18 =  $10^{-5}\text{M}$ , Tiempo de modificación = 5 min, Tiempo de acumulación = 20s, Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^{\circ}\text{C}$ ; Amplitud de impulsos = 20mV, Frecuencia=200Hz

Los valores de la intensidad de pico obtenidas al variar el step se ajustan a la ecuación:

$$i_p(\mu\text{A}) = 0.031v^{1/2}(\text{mV}) + 0.037$$

Esta dependencia frente a  $v^{1/2}$  indica que la oxidación electroquímica se da a través de un proceso controlado por difusión, como era de esperar ya que el la variación del step es una modificación de la velocidad de barrido.

Se puede comprobar que al variar la velocidad de barrido, el potencial de pico se mantiene constante.

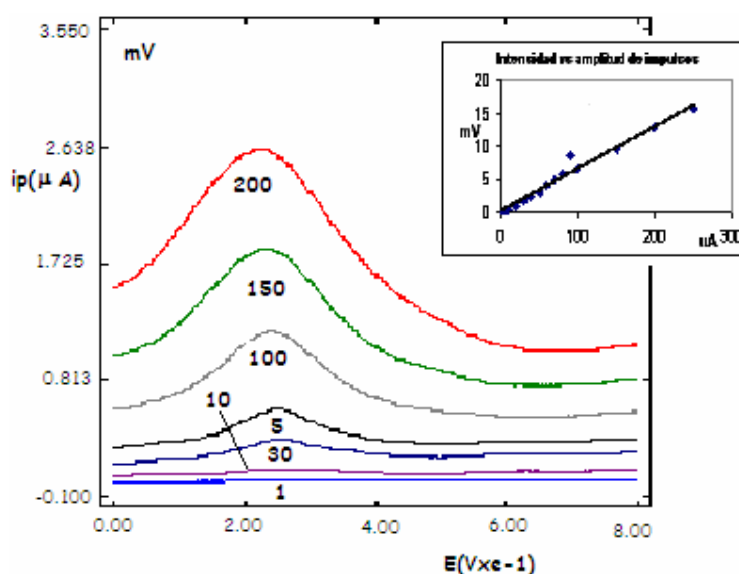
## 7.- Influencia de la amplitud de impulsos

Los voltagramas y los datos obtenidos al estudiar esta variable se encuentran en la figura 69 y en la tabla XL, donde se puede observar que la intensidad de pico aumenta linealmente según la ecuación:

$$i_p(\mu A)=0.065\Delta E(mV)+0.093$$

El potencial de pico presenta una variación con la amplitud de impulsos que cumple la ecuación obtenida en las técnicas impulsionales, es decir:

$$E_1=E_{1/2}\pm\Delta E/n$$



**Figura 69**  
**Influencia de la amplitud de impulsos**

Condiciones:  $pH=5$ , Concentración ODA  $=1\mu g/mL$ , Concentración de C18  $=10^{-5}M$ , Tiempo de modificación  $=5\text{ min}$ , Tiempo de acumulación  $=20s$ , Potencial de acumulación  $=0mV$ ; temperatura  $=13^{\circ}C$ ; Step  $=1mV$ , Frecuencia  $=200Hz$

Al aumentar la amplitud de impulsos aumenta la anchura de semipico, por lo que es necesario llegar a una situación de compromiso entre sensibilidad (mayor  $i_p$ ) y selectividad (menor anchura de semipico); encontrándose esta situación a un valor de amplitud de impulsos de 30mV

**Tabla XL**

<b>Amplitud(mV)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>1</b>		
<b>3</b>	0,14	258
<b>5</b>	0,25	254
<b>10</b>	0,49	252
<b>20</b>	1,0083	249
<b>30</b>	1,46	248
<b>40</b>	1,82	246
<b>50</b>	2,19	243
<b>60</b>	2,51	243
<b>70</b>	2,80	244
<b>80</b>	3,18	240
<b>90</b>	3,67	234
<b>100</b>	3,80	236
<b>150</b>	4,89	225
<b>200</b>	6,22	216
<b>250</b>	7,13	205

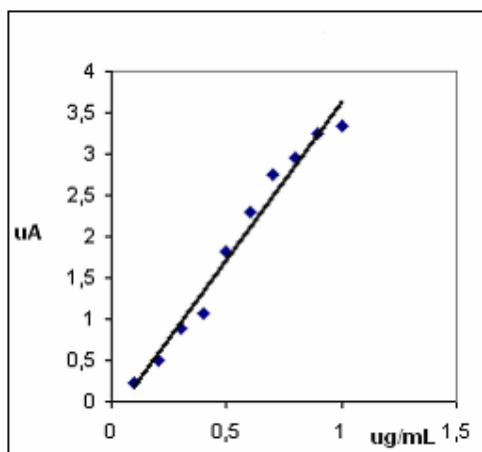
## 8.- Influencia de la concentración

Una vez obtenidas las condiciones óptimas para las distintas variables, tanto químicas como instrumentales, se llega a la conclusión de que éstas son:

***pH =5, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación =10 min, Temperatura =13° C; Tiempo de acumulación =90s, Potencial de acumulación =0mV, Potencial inicial =0mV, Potencial final =800mV, Step = 2mV, Amplitud de impulsos =30mV, Frecuencia = 300Hz***

Se realiza un estudio de la variación de la intensidad de pico en función de la concentración de 4,4'-oxidianilina, estudio necesario para el establecimiento del calibrado del posible método de análisis.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla XLI y se representan en la figura 70.



**Figura 70**  
**Variación de la intensidad de onda frente a la concentración de ODA**

La respuesta se ajusta a la recta de ecuación:

$$i_p(\mu A) = 3,83C(\mu g/mL) - 0,20$$

$$R^2 = 0,976$$

**Tabla XLI**

<b>C(ug/mL)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>0,1</b>	0,22	220
<b>0,2</b>	0,49	226
<b>0,3</b>	0,89	224
<b>0,4</b>	1,058	226
<b>0,5</b>	1,83	224
<b>0,6</b>	2,30	228
<b>0,7</b>	2,75	228
<b>0,8</b>	2,96	228
<b>0,9</b>	3,24	230
<b>1,0</b>	3,34	230
<b>1,5</b>	3,56	232
<b>2,0</b>	3,61	234
<b>2,5</b>	3,11	234
<b>3,0</b>	3,34	234
<b>3,5</b>	3,30	236
<b>4,0</b>	3,37	234
<b>4,5</b>	3,13	236
<b>5,0</b>	3,0085	240

La linealidad se encuentra comprendida entre los valores de concentración 0.05 a 1.5µg/mL, ya que a valores superiores se desvía de la linealidad.

Dichos valores tienen una exactitud de 0.011 % (error relativo) y una precisión de 2.19% (desviación estándar relativa), calculados para una concentración de 0.8 µg/mL y 10 medidas.

Los límites de detección y determinación son 0.035 y 0.12 µg/mL; viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.



## **Estudios con el electrodo modificado con C8**

Al igual que lo realizado en el anterior compuesto, se estudiará, a continuación, el comportamiento de un electrodo de oro modificado con un compuesto no electroactivo de cadena más corta.

Se han realizado idénticos estudios a los realizados previamente con C<sub>18</sub>.

### **1.- Concentración del modificador**

En primer lugar se estudia la influencia de la concentración del modificador. Siendo el objetivo de este estudio, como en casos anteriores, controlar la formación de los canales de acceso restringido hacia la superficie del electrodo, a través de los cuales se produce la oxidación electroquímica de la 4,4'-oxidianilina, y conocer de esta manera la influencia de este modificador en el aporte de material electroactivo a la superficie activa de intercambio de electrones.

Es de esperar que cuanto mayor sea la concentración de la disolución de modificador, más pequeño será el tamaño de estos canales, dificultándose de esta manera el aporte de materia y por tanto la oxidación electroquímica del 4,4'-diaminodifenil eter en la superficie del electrodo. El rango de concentraciones con que se ha efectuado este estudio se encuentra comprendido entre  $10^{-3}$  mol/L y  $10^{-6}$  mol/L.

El control de la concentración del modificador nos permite variar el potencial del compuesto estudiado así como la intensidad de la onda, llegando a la práctica desaparición si en un momento dado es necesario para evitar una posible interferencia.

Para conseguir resultados reproducibles cuando el electrodo de oro se encuentra modificado es necesario controlar la temperatura y que ésta se encuentre siempre por debajo de 15° C, para lo que se termostatan todas la disoluciones a 13° C, como con C<sub>18</sub>.

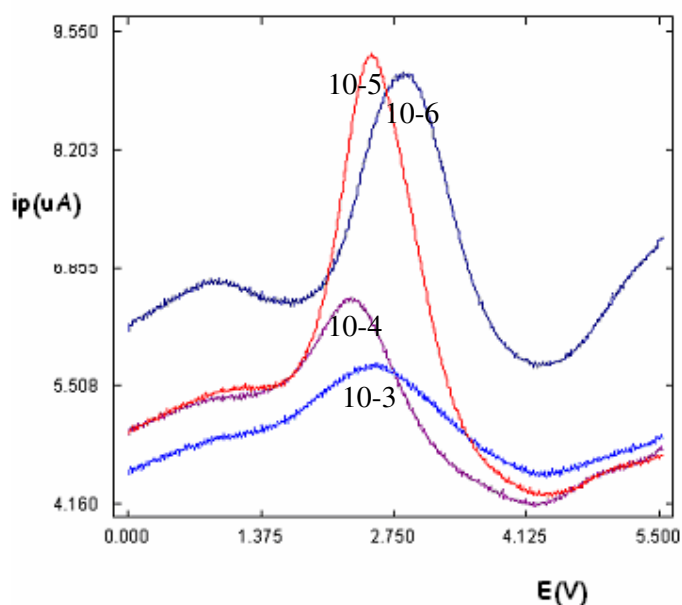


Figura 71

Influencia de la concentración del modificador  $C_8$ 

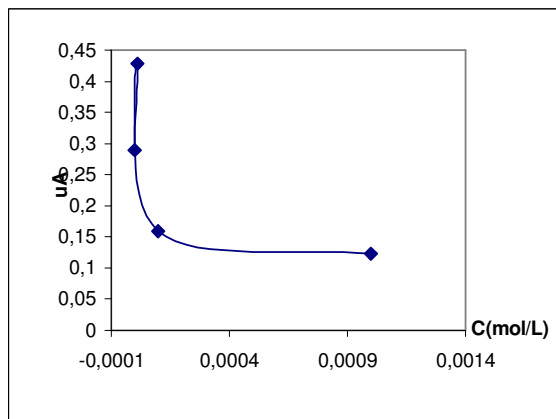
**Condiciones:** pH=5; Concentración de ODA =  $1\mu\text{g/mL}$ ; Tiempo de modificación=5min; Tiempo de acumulación =20s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^\circ\text{C}$ ; Step=1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia=200Hz

Tabla XLI

conc (mol/L)	Ip(μA)	Ep(mV)
0,001	0,12	751
0,0001	0,16	723
0,00001	0,43	737
0,000001	0,29	694

La figura 71 y la tabla XLI muestran, respectivamente, el resultado del comportamiento del electrodo modificado con respecto a la ODA, observándose que a medida que aumenta la concentración del modificador disminuye la intensidad de oxidación, lo cual es predecible, debido a la disminución de la superficie activa del electrodo. Pero además hay un cambio en el potencial de pico, lo que muestra que se produce un cambio en la velocidad de transferencia de masa, como se puede observar en la figura 71.





**Figura 72**

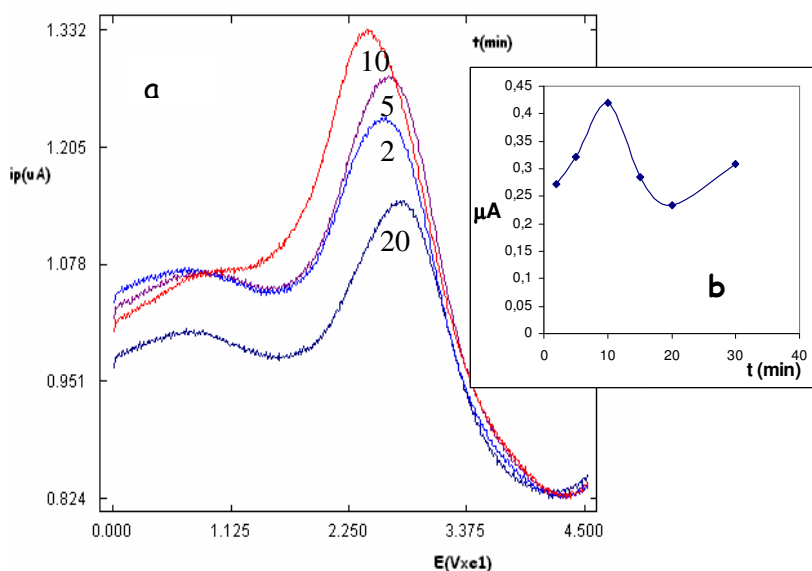
**Variación del potencial de pico con respecto a la concentración de modificador.**

De todo lo expuesto, se deduce que para una concentración de modificador de  $10^{-5}$ , mol/L se obtienen los canales de acceso hacia la superficie del electrodo más adecuados para la oxidación electroquímica de la 4,4'-oxidianilina, y que la modificación que se produce es superior a la que se logra con  $C_{18}$ .

## 2.- Tiempo de modificación

Otra variable que puede influir es el tiempo de modificación de la superficie del electrodo con  $C_8$  siendo los voltagramas obtenidos los representados en la figura 73.

El estudio se realiza empleando concentraciones de  $C_8$  de  $10^{-5}$  mol/L. Se obtiene la mayor intensidad para un tiempo de 10 minutos lo que indica que es donde se produce la mínima modificación del electrodo (figura 73 b).



**Figura 73**

**Variación de la intensidad de onda ( $\mu A$ ) frente al potencial (mV) a distintos tiempos de modificación**

**Condiciones:**  $pH=5$ ; Concentración de ODA  $=1\mu g/mL$ ; Concentración de  $C_8 = 10^{-5} M$ ; Tiempo de acumulación  $=20s$ ; Potencial de acumulación  $= 0mV$ ; temperatura  $=13^\circ C$ ; Step  $=1mV$ ; Amplitud de impulsos  $=20mV$ ; Frecuencia  $=200Hz$

El comportamiento de este modificador es idéntico al observado cuando se utiliza el C18, sin embargo la diferencia longitudinal de la cadena del modificador influye en cómo se desplaza el potencial de pico. Si comparamos los dos gráficos vemos como a medida que disminuye la intensidad de pico aumenta el potencial, lo que indica que la energía para la oxidación del compuesto aumenta, estando en idénticas condiciones, lo cual puede deberse a la modificación de la transferencia de masa.

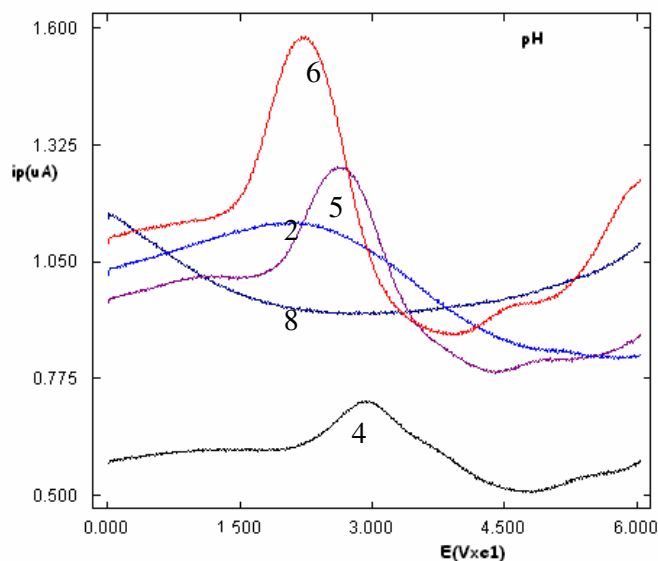
Además, como puede verse en la figura 73 a y en la tabla XLIII, el potencial de pico apenas sufre variación, manteniéndose prácticamente constante.

**Tabla XLIII**

<b>t(min)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>1</b>	0,33	259
<b>2</b>	0,22	242
<b>5</b>	0,39	255
<b>10</b>	0,51	247
<b>15</b>	0,52	236
<b>20</b>	0,63	227
<b>30</b>	0,19	239

### 3.- Influencia del pH

El rango de pH empleado en este estudio es el mismo que en el caso del electrodo sin modificar y modificado con C<sub>18</sub>, empleándose idénticas condiciones y disoluciones tamponadas, es decir, desde pH 2 hasta pH 11. Los voltagramas obtenidos están representados en la figura 74.



**Figura 74**  
**Variación del pH**

**Condiciones:** Concentración de ODA =  $1\mu\text{g/mL}$ ; Concentración de C<sub>8</sub> =  $10^{-5}\text{M}$ ; Tiempo de modificación = 5 min; Tiempo de acumulación = 20s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^{\circ}\text{C}$ ; Step = 1mV; Amplitud de impulsos = 20mV; Frecuencia = 200Hz

Como se puede comprobar el pH más adecuado, es decir, el que presenta una mayor intensidad de corriente y proporciona la onda mejor definida, se obtiene a pH 6, siendo éste el que nos ha dado la mejor señal. En cambio a valores alcalinos de pH no se obtuvo señal alguna, y a pH inferiores a 4 hay una indefinición de onda (se obtienen ondas muy achas y mal definidas).

En cuanto a la variación del potencial, se puede ver en la figura 75 b, que sigue la evolución contraria a la intensidad de onda, esto es, se observa una disminución del potencial de pico para valores de pH comprendidos entre 4 y 6, donde la onda se encuentra perfectamente definida.

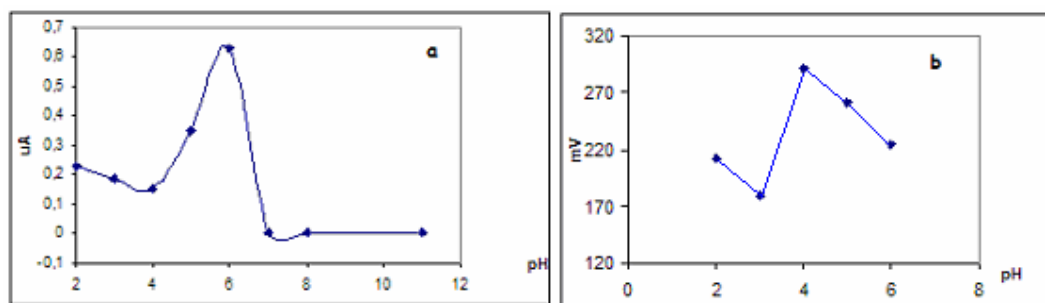


Figura 75

Variación de la intensidad y del potencial frente al pH

Tabla XLIV

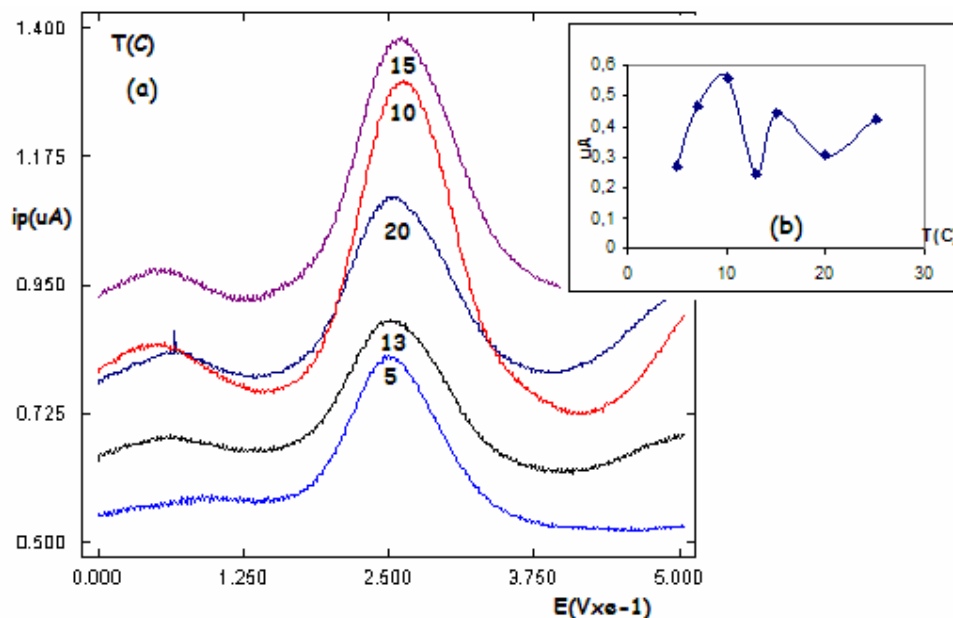
pH	$I_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
2	0,23	212
3	0,18	180
4	0,15	292
5	0,35	261
6	0,63	224

Dado que el valor de  $pK$  ácido-base de la oxidianilina tiene un valor de 5, puede deducirse que esta molécula es retenida por el modificador, no llegando a la superficie del electrodo la especie protonada ni la especie no protonada. Mientras que para valores de pH comprendidos entre 4 y 6 las dos especies circulan por los canales y tienen una menor interacción con el modificador ( $C_8$ ). Además estos valores de pH se han utilizado en los estudios cromatográficos para establecer las condiciones de la fase móvil.

#### 4.- Influencia de la temperatura

La temperatura es una variable determinante en la quimisorción en la superficie del electrodo, por lo que es preciso controlarla con el fin de que los resultados sean reproducibles, ya que en caso contrario son enormemente dispersos.

La figura 76 a muestra la influencia de dicha variable, observándose que la intensidad de pico más elevada se obtiene a 10° C, siendo los resultados reproducibles.



**Figura 76**  
**Influencia de la temperatura**

**Condiciones:** pH= 5; Concentración de ODA =1  $\mu\text{g/mL}$ ; Concentración de  $\text{C}_8 = 10^{-5}\text{M}$ ; Tiempo de modificación = 5 min; Tiempo de acumulación=20s; Potencial de acumulación = 0mV; Step =1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

Como se puede comprobar en la figura 76 b y en la tabla XLV, el potencial no sufre apenas variación al modificar la temperatura de la disolución de ODA objeto de estudio, lo que no influye en la transferencia electrónica.

**Tabla XLV**

T(°C)	$i_p$ (uA)	$E_p$ (mV)
5	0,27	246
7	0,53	251
10	0,56	262
13	0,24	265
15	0,44	261
20	0,31	254
25	0,43	265

## 5.-Estudio del tiempo de acumulación

En este estudio se trata de observar el comportamiento del electrodo de oro modificado cuando se retiene sobre él la 4,4'-oxidianilina durante unos periodos de tiempo conocidos. Obteniendo así información sobre la cinética de acumulación y de la posible isoterma de adsorción en el conjunto físico del electrodo. Los resultados obtenidos se encuentran en la figura 77 y en la tablaX LVI.

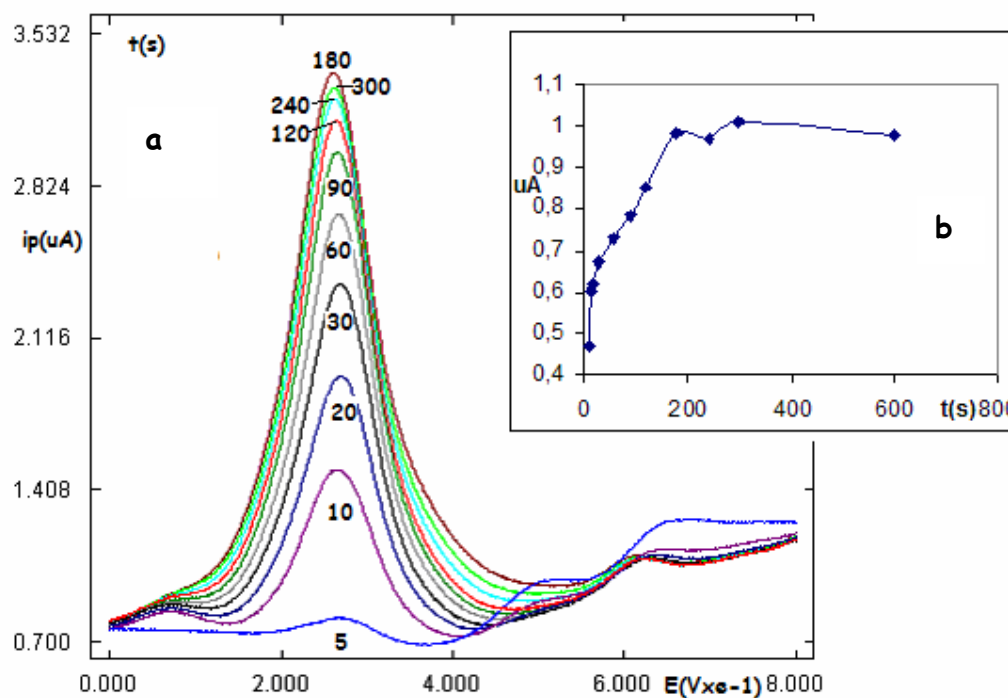


Figura 77

**Variación de la intensidad de pico frente al tiempo de acumulación**

**Condiciones:** pH= 5; ODA =1 $\mu$ g/mL; Concentración de  $C_8$  =10<sup>-5</sup>M; Tiempo de modificación= 5 min; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =13 °C Step=1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

Como se puede observar en la figura 77 a, la intensidad de pico se incrementa hasta un tiempo de acumulación de 180 segundos, manteniéndose prácticamente constante (la intensidad de pico) para tiempos superiores, lo que es indicativo de la saturación del electrodo. También es posible comprobar estos resultados en la tabla XLVI.

El estudio de esta variable muestra que la presencia de  $C_8$  en la superficie del electrodo, como modificador, produce un carácter fundamentalmente adsorptivo, lo que permitirá aumentar la sensibilidad del método, pudiendo disminuir los límites de detección y controlar la selectividad, debido a que el acceso a la superficie electroactiva del electrodo está controlado.

**Tabla XLVI**

<b>t(s)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>5</b>	0,096	269
<b>10</b>	0,74	267
<b>20</b>	1,43	270
<b>30</b>	1,54	270
<b>60</b>	1,64	266
<b>90</b>	2,19	265
<b>120</b>	2,33	264
<b>180</b>	2,41	263
<b>240</b>	2,45	262
<b>300</b>	2,47	260
<b>600</b>	2,36	260

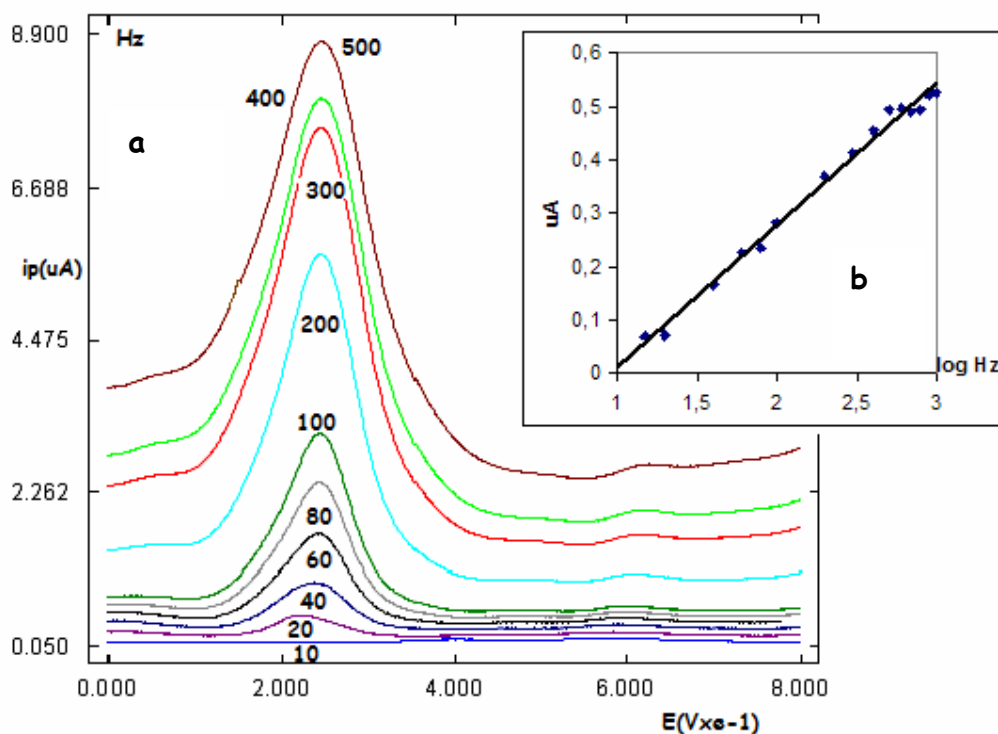
La variación de intensidad de pico frente al tiempo de acumulación presenta una isoterma de adsorción clásica, produciéndose un incremento de material adsorbido hasta alcanzar la concentración de saturación de la superficie adsortiva.



## Variables instrumentales

### 6.- Influencia de la frecuencia

Los voltagramas obtenidos al estudiar esta variable se encuentran en la figura 78 a, así como la variación de la intensidad de pico en función de la frecuencia en la figura 78 b.



**Figura 78**  
**Influencia de la frecuencia en el electrodo modificado con C8**

**Condiciones:** pH= 5; Concentración de ODA =  $1\mu g/mL$ ; Concentración de  $C_8 = 10^{-5}M$ ; Tiempo de modificación = 5 min; Tiempo de acumulación = 20s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^\circ C$ ; Step = 1mV; Amplitud de impulsos = 20mV

A partir de la figura 78 a, se deduce que la frecuencia óptima es la correspondiente a 200Hz, ya que es la que da la onda que posee la menor anchura de semipico.

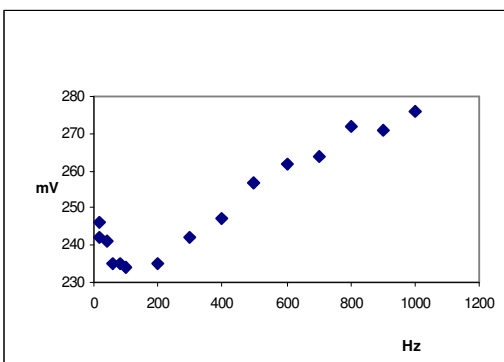
La variación de las intensidades de onda frente a la frecuencia se ajusta a la ecuación:

$$i_p(\mu A) = 0,29 \log f(Hz) - 0,33$$

la cual sigue una evolución logarítmica (figura 78 b), lo que indica que la oxidación electroquímica se da a través de un proceso de adsorción.

La pendiente de la ecuación anterior proporciona un valor de  $\alpha = 0.29$  lo que permite deducir que se trata de un proceso cuasi reversible.

En cuanto a la evolución del potencial, se puede comprobar tanto en la figura 79 como en la tabla XLVII, que apenas sufre variación, ya que la diferencia entre el valor máximo de potencial 276mV y el mínimo 246mV, es de 0.03V.



**Figura 79**  
**Variación del potencial de pico frente la frecuencia**

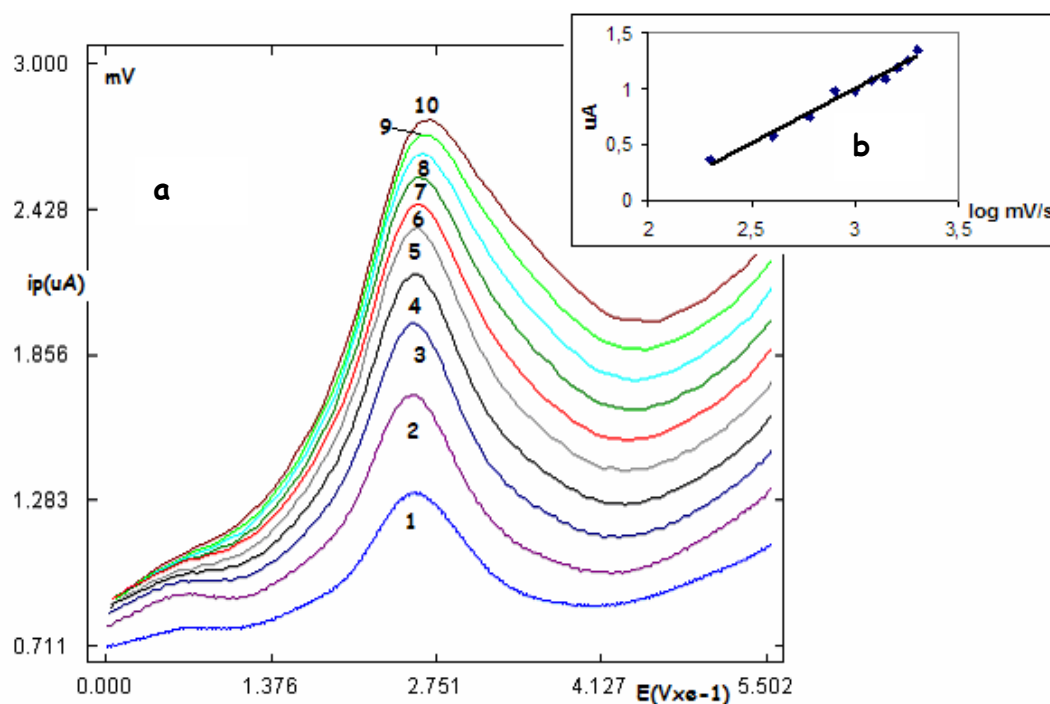
**TablaX LVII**

Hz	Ip(uA)	Ep(mV)
15	0,067	246
20	0,071	242
40	0,17	241
60	0,23	235
80	0,23	235
100	0,28	234
200	0,37	235
300	0,41	242
400	0,45	247
500	0,49	257
600	0,49	262
700	0,49	264
800	0,49	272
900	0,52	271
1000	0,53	276

## 7.- Influencia del Step (escalón de potencial)

Al modificar el step ocurre algo muy similar a la amplitud de impulsos, es decir, a valores elevados de step las ondas se ensanchan mucho deformándose y perdiendo definición.

Para llevar a cabo este estudio, se produce un incremento de la onda cuadrada manteniendo constante la frecuencia, de manera que se modifica la velocidad de barrido.



**Figura 80**  
**Influencia del step**

**Condiciones:** pH= 5; Concentración de ODA =1  $\mu\text{g/mL}$ ; Concentración de  $C_8 = 10^{-5}\text{M}$ ; Tiempo de modificación = 5 min; Tiempo de acumulación=20s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =13 °C ; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz

Los resultados obtenidos se pueden ver en la figura 80 a. En la figura 80 b aparece representada la respuesta lineal, observándose que la variación de la intensidad de pico con respecto la velocidad de barrido es logarítmica según la ecuación:

$$E(\text{mV})=24,25\log v(\text{V/s})+ 179,51.$$

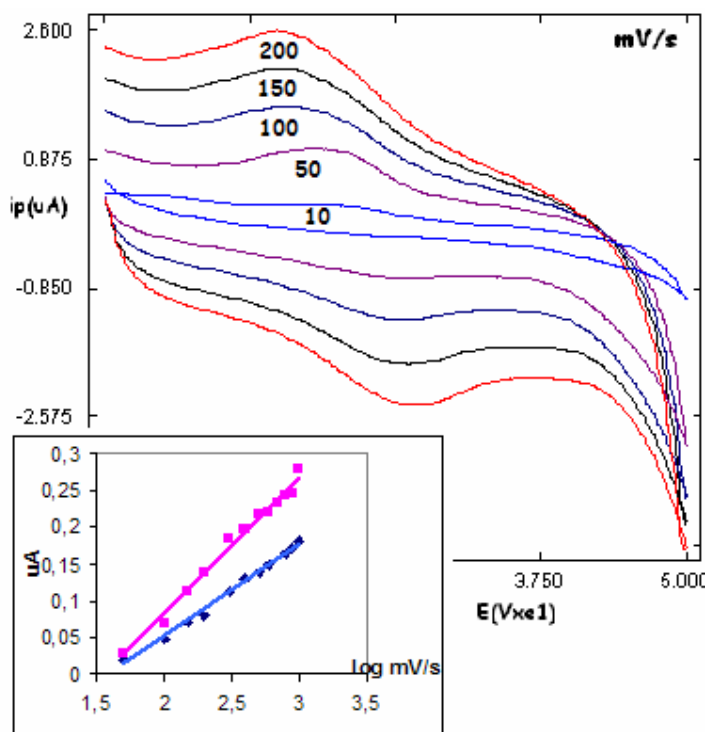
A la vista de los resultados se elegirá step 1mV para estudios posteriores.

En el caso del estudio del step, la evolución del potencial de pico es similar a la frecuencia, es decir, se mantiene prácticamente constante.

A continuación se estudia el proceso mediante voltametría cíclica, para confirmar los resultados obtenidos mediante voltametría de onda cuadrada para lo cual se analizan las diferentes variables.

## 8.- Velocidad de barrido

La figura 81 muestra la respuesta obtenida al variar la velocidad de barrido en voltamperometría en un intervalo comprendido entre 10mV/s hasta 1000mV/s. En dichos voltagramas se observa que las ondas no son tan definidas como en le electrodo sin modificar ensanchándose considerablemente dichas ondas y no se mantiene constante el potencial de pico.



**Figura 81**

### **Influencia de la velocidad de barrido en voltametría cíclica**

**Condiciones:** pH= 5; Concentración de ODA =5 μg/mL; Concentración de  $C_8 = 10^{-5}M$ ; Tiempo de modificación = 5 min; temperatura =13 °C

La intensidad de pico anódica varía al modificar la velocidad de barrido según las ecuaciones :

$$\text{Onda anódica: } i_p(\mu A) = 0,24 \log v(\text{mV/s}) - 0,43$$

$$\text{Onda catódica; } i_p(\mu A) = 0,28 \log v(\text{mV/s}) - 0,51$$

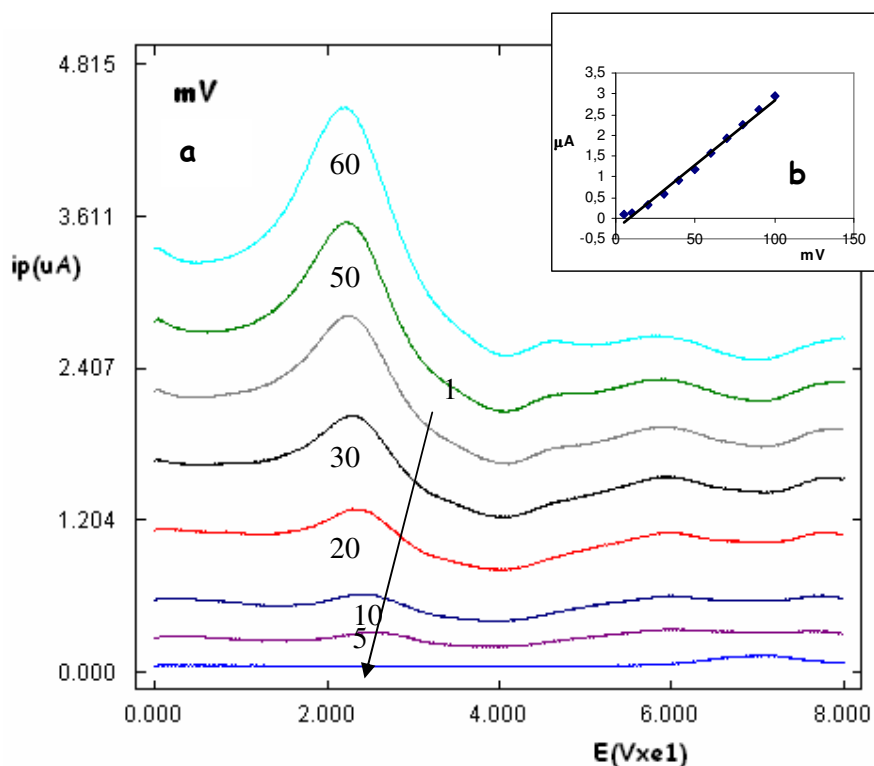
Lo que indica que el sistema tiene un comportamiento difusivo controlado por adsorción.

**Tabla XLVIII**

<b>onda anódica</b>			<b>onda catódica</b>		
<b>mV/s</b>	<b>uA</b>	<b>mV(pot)</b>	<b>mV/s</b>	<b>uA</b>	<b>mV(pot)</b>
<b>50</b>	0,020	253	<b>50</b>	0,028	194
<b>100</b>	0,048	266	<b>100</b>	0,069	174
<b>150</b>	0,070	270	<b>150</b>	0,11	167
<b>200</b>	0,079	274	<b>200</b>	0,14	161
<b>300</b>	0,11	273	<b>300</b>	0,18	160
<b>400</b>	0,13	286	<b>400</b>	0,19	151
<b>500</b>	0,14	286	<b>500</b>	0,22	149
<b>600</b>	0,15	286	<b>600</b>	0,22	143
<b>800</b>	0,16	301	<b>700</b>	0,23	140
<b>900</b>	0,17	302	<b>800</b>	0,24	132
<b>1000</b>	0,18	309	<b>900</b>	0,25	126
			<b>1000</b>	0,28	124

## 9.- Influencia de la amplitud de impulsos

Los voltagramas obtenidos al realizar el estudio de esta variable están representados en la figura 82 a.



**Figura 82**  
**Influencia de la amplitud de impulsos**

**Condiciones:** pH= 5; Concentración de ODA =  $1 \mu g/mL$ ; Concentración de  $C_8 = 10^{-5} M$ ; Tiempo de modificación = 5 min; Tiempo de acumulación = 20s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =  $13^\circ C$ ; Step = 1mV; Frecuencia = 200Hz

La representación gráfica de la intensidad frente a la amplitud de impulsos (figura 82 b) se ajusta a una variación lineal, según la ecuación:

$$i_p(\mu A) = 0,031 \Delta E(mV) - 0,25$$

pero aumenta la anchura de semipico, por lo que la relación más favorable es a 20mV, eligiéndose esta amplitud de impulsos. El potencial de onda se modifica de manera correspondiente a una técnica impulsional, al igual que en el caso de la frecuencia, del step y de la velocidad de barrido en voltamperometría cíclica.

Los resultados correspondientes a este estudio se encuentran recogidos en la tabla XLIX.

**Tabla XLIX**

<b>Amplitud(mV)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>5</b>	0,086	255
<b>10</b>	0,13	241
<b>20</b>	0,31	230
<b>30</b>	0,59	231
<b>40</b>	0,90	226
<b>50</b>	1,16	224
<b>60</b>	1,58	220
<b>70</b>	1,92	216
<b>80</b>	2,27	217
<b>90</b>	2,61	213
<b>100</b>	2,93	213
<b>150</b>	3,48	195
<b>200</b>	3,39	178
<b>250</b>	2,81	166

## 10.- Influencia de la concentración

Una vez que se han realizado todos los estudios previos de las variables químicas e instrumentales para elegir cuáles son las condiciones de trabajo óptimas, o las que mejores resultados proporcionan con vistas a su aplicación en la determinación del compuesto estudiado, se procede al estudio de la variación de la concentración o calibrado de la ODA.

Las condiciones de la metodología elegidas son las siguientes:

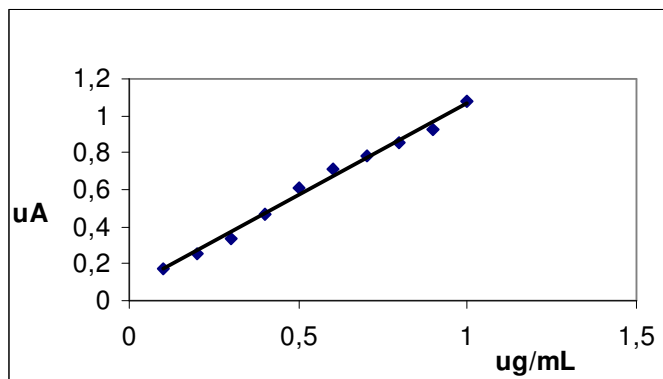
***pH= 6; Temperatura = 10 C; Concentración de  $C_8 = 10^{-5}M$ ; Tiempo de modificación =5 min; Tiempo de acumulación =180s; Potencial de acumulación = 0mV; temperatura =10° C Step =1mV; Amplitud de impulsos=20mV; Frecuencia =200Hz***

Con estas condiciones se obtiene la mejor definición y mayor sensibilidad en onda cuadrada.

La figura 83 corresponde a la recta de calibrado obtenida, la cual se ajusta a la ecuación:

$$i_p(\mu A) = 1,01(\mu g/mL)C + 0,069$$

$$R^2 = 0,995$$



**Figura 83**  
**Variación de la intensidad frente a la concentración**



**Tabla L**

<b>C(μg/mL)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
0,1	0,17	124
0,2	0,26	126
0,3	0,34	145
0,4	0,46	156
0,5	0,61	160
0,6	0,71	165
0,7	0,78	169
0,8	0,86	170
0,9	0,93	175
1,0	1,082	178
1,5	1,11	179
2,0	1,12	181
2,5	1,026	183
3,0	0,89	188
3,5	0,83	188
4,0	0,75	188
4,5	0,72	190
5,0	0,61	192

La recta de calibrado se encuentra comprendida entre los valores de concentración 0.1 a 1.0μg/mL, ya que a valores superiores se desvía de la linealidad.

Dichos valores tienen una exactitud de 0.05% (error relativo) y una precisión de 3.71% (desviación estándar relativa), calculados para una concentración de 0.8 μg/mL y 10 medidas

Los límites de detección y determinación son 0.064 y 0.22μg/mL respectivamente; viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.



## **APLICACIÓN**

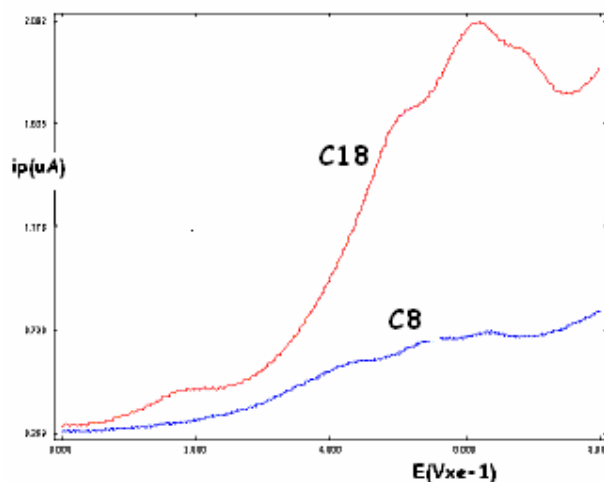


Una vez estudiado el comportamiento electroquímico de la 4,4'-oxidianilina y utilizando voltametría de onda cuadrada, electrodos de oro sin modificar y modificados con C<sub>8</sub> y C<sub>18</sub> y establecidas las condiciones óptimas de las variables tanto químicas, se ha procedido al desarrollo de una metodología encaminada a la determinación de la ODA en diferentes matrices.

Se han elegido siempre las mejores condiciones desde una perspectiva de sensibilidad y selectividad.

Los estudios anteriormente descritos se han aplicado a la determinación de la 4,4'-oxidianilina en un agua residual procedente de una industria textil y en un tinte de calzado comercial. El tratamiento de las muestras es el que aparece descrito en el apartado de procedimientos de la presente memoria

En los estudios realizados en dichas muestras, se observa que en el agua residual (fig 84) no se obtiene señal analítica del compuesto utilizándose el electrodo sin modificar, ni al modificarlo con C<sub>8</sub>, en cambio si se obtiene señal al hacer la determinación con el electrodo modificado con C<sub>18</sub>.



**Figura 84**  
Señal del agua residual procedente de industria textil.

Las condiciones de medida fueron:

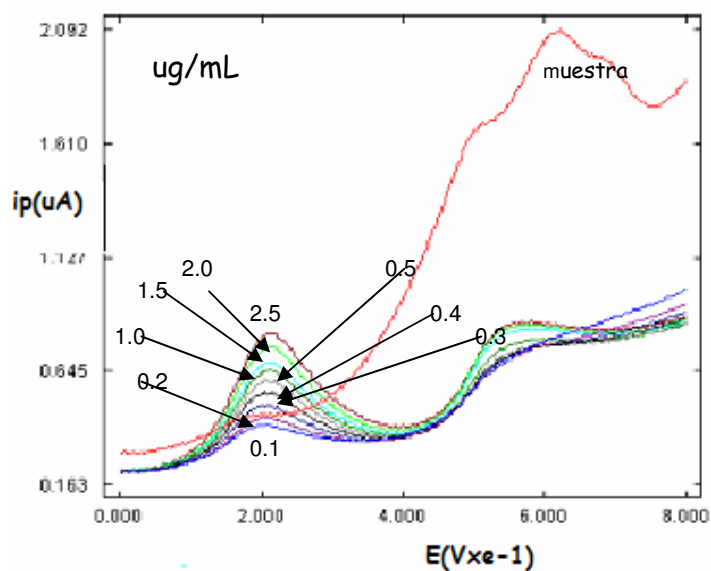
**Condiciones:** *pH=5, Concentración de C18 =10<sup>-5</sup>M, Tiempo de modificación =10 min, Tiempo de acumulación =90s, Potencial de acumulación =0mV, Potencial inicial =0mV, Potencial final=800mV, Step = 2mV, Amplitud de impulsos =30mV, Frecuencia = 300Hz*

Dada la señal obtenida para la determinación de la ODA se ha utilizado el método de adición estándar cuyos resultados, para la modificación con C<sub>18</sub> se exponen en la figura 85, siendo la ecuación de la recta a la que se ajusta:

$$I_p(\mu A) = 0,97 C(\mu g/mL) + 1,94$$

$$R^2 = 0,991$$

Al interpolar los datos se obtiene que la concentración de ODA en la muestra de agua residual es de 2.01  $\mu g/mL$ .



**Figura 85**  
**Determinación de ODA en agua residual con un electrodo modificado con n-octadecilditiofuro**

Cuando la determinación del compuesto estudiado se efectúa en el tinte, del cual se tomaron 25  $\mu L$  del tinte concentrado y se llevaron a 25 mL de disolución en las condiciones adecuadas de cada estudio precedente, no se obtiene señal en el electrodo sin modificar, ni en la modificación con C18 (fig 85): Pero, en cambio, se observa una señal clara y nítida de la ODA para la modificación con C8.

Se observa que cuando se modifica el electrodo con octanotiol (C8) disminuye la corriente residual llegando a distinguir claramente una onda que corresponde con el potencial de pico de la ODA. Este comportamiento es indicativo de que este modificador actúa como separador entre el analito y la matriz.

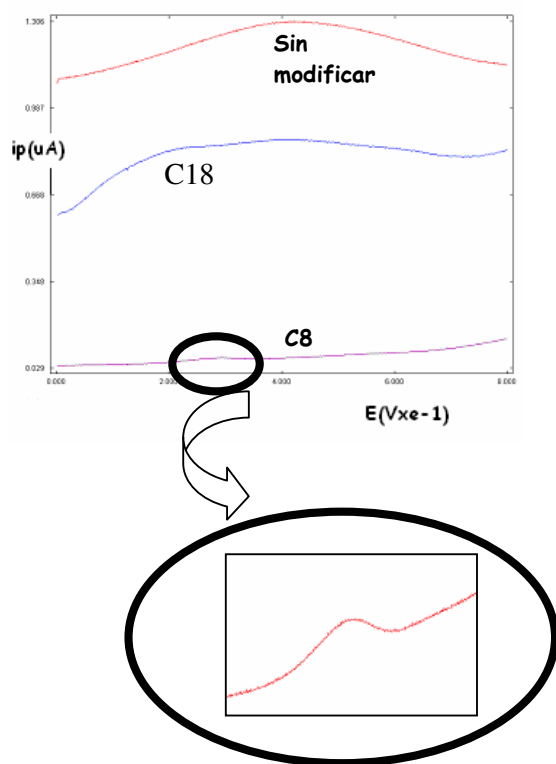
Haciendo la determinación por adición estándar encontramos una concentración de 4,4'-oxidianilina de 3.3951  $\mu g/mL$  para la modificación con C8, siendo la ecuación de la recta a la que se ajusta:

$$I_p (\mu A) = 0,038 C(\mu g/mL) + 0,13$$

$$R^2 = 0,993$$

Las condiciones de medida en este caso fueron:

**Condiciones:** *pH=5, Concentración de C18 =  $10^{-5}M$ , Tiempo de modificación = 10 min, Tiempo de acumulación = 180s, Potencial de acumulación = 0mV, Potencial inicial = 0mV, Potencial final = 800mV, Step = 1mV, Amplitud de impulsos = 20mV, Frecuencia = 200Hz*



**Figura 86**  
**Influencia de la modificación**

Es importante destacar que las muestras empleadas no han sufrido ninguna separación previa; siendo la única modificación sufrida el ajuste al pH adecuado, así como las diluciones correspondientes en agua destilada.

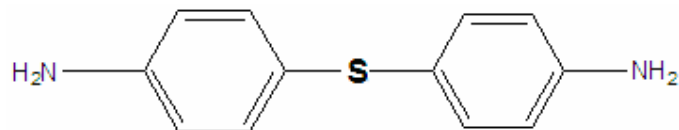




**4,4'-tiodianilina**



Con objeto de conocer más en profundidad la influencia de los modificadores  $C_8$  y  $C_{18}$  en electrodos de oro, se elige la 4,4'-tiodianilina (TDA) para su estudio.



La 4,4'-tiodianilina puede llegar a la superficie electródica a través de los canales e interactuar al mismo tiempo con el modificador, para, dada su estructura, bien, electrooxidarse en la superficie del electrodo y quedar adsorbido el producto de la oxidación, o bien adsorberse en la superficie electródica por el grupo sulfuro, producirse la quimisorción en el oro y la posterior oxidación del grupo amino. A diferencia de la 4,4'-oxidianilina que se oxidaba directamente en el electrodo formando el sistema quinona/hidroquinona.

Al igual que en el caso de las dos moléculas anteriores se exponen los resultados encontrados al utilizar un electrodo de oro, que después se modificará con  $C_8$  y  $C_{18}$ .

## Estudios con un electrodo de oro.

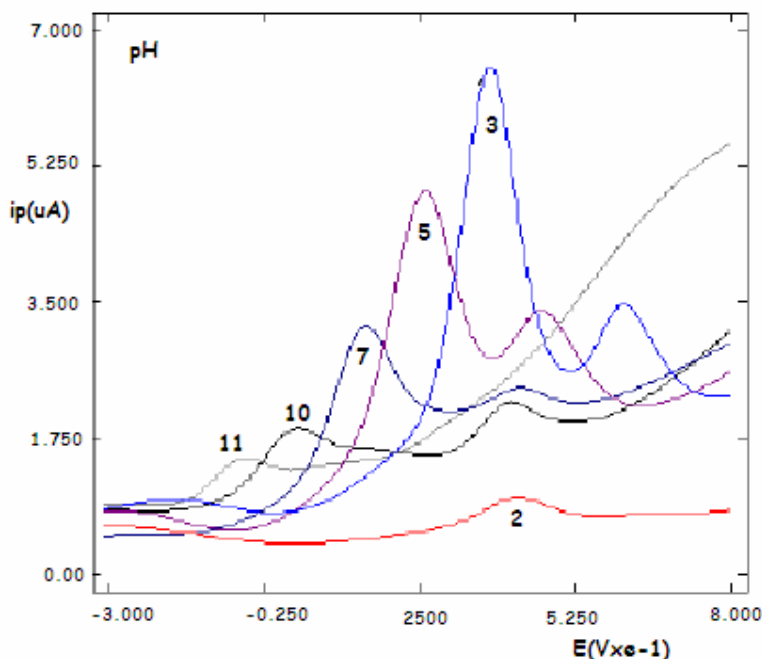
Los estudios que se han realizado tienen como objeto, al igual que en las dos moléculas anteriores, determinar el comportamiento electroquímico del compuesto. Encaminado a la obtención de un método de determinación electroquímica.

Se estudian los parámetros, tanto químicos como instrumentales, que puedan proporcionar información sobre las posibles reacciones Redox que se puedan producir sobre un electrodo de oro y utilizando voltametría de onda cuadrada.

### 1.-Influencia del pH

El rango de pH con que se ha llevado a cabo este estudio se encuentra comprendido entre pH 2 y pH 11, estando preparados, los tampones como en los estudios anteriores, en medio fosfórico para pH 2, 3, 6, 7, 8, 10 y 11; en medio acético para pH 4 y 5; y en medio bórico el pH 9.

En la figura 87 se encuentran recogidos los voltagramas en onda cuadrada correspondientes a los distintos valores de pH.



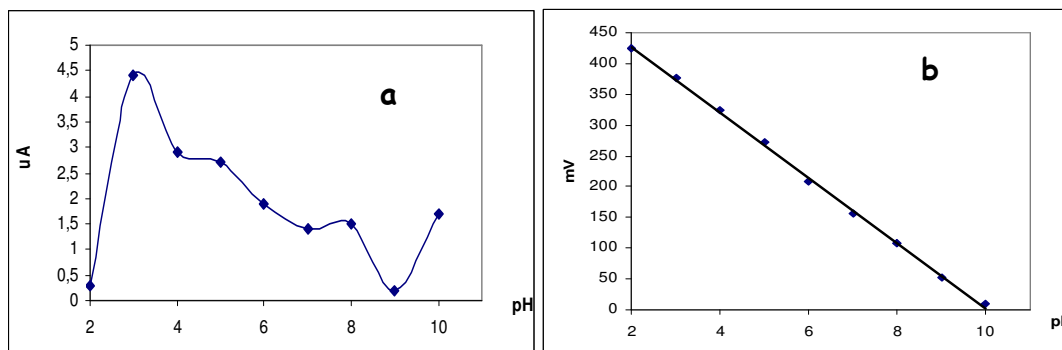
**Figura 87**  
**Influencia del pH**

**Condiciones:** concentración de TDA= 1ug/mL; tiempo de acumulación= 120s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =10 °C; step= 1mV; amplitud de impulsos: 50mV y frecuencia= 100Hz

Se observa que para valores de pH comprendidos entre pH 3 y pH 10 aparecen dos ondas; una con potenciales de pico entre 424 y 10mV, y una segunda onda menos intensa y mal definida. Por lo que se ha estudiado la primera onda.

El valor de pH que proporciona la señal más intensa y mejor definida es pH 3. A medida que nos desplazamos a valores de pH más básicos el potencial al que aparece la TDA se desplaza hacia valores más negativos.

La variación de la intensidad y del potencial de pico en función del pH se encuentra recogido en la siguiente figura (Fig. 88) y los datos obtenidos en la tabla LI.



**Figura 88 Variación de la intensidad y el potencial de pico frente al pH**

a) Intensidad de pico frente a pH

b) Potencial de pico frente a pH

Como puede observarse en la figura 88 b el potencial de pico varia linealmente con el pH ajustándose a la siguiente ecuación:

$$E(mV) = -52.9pH + 532.04$$

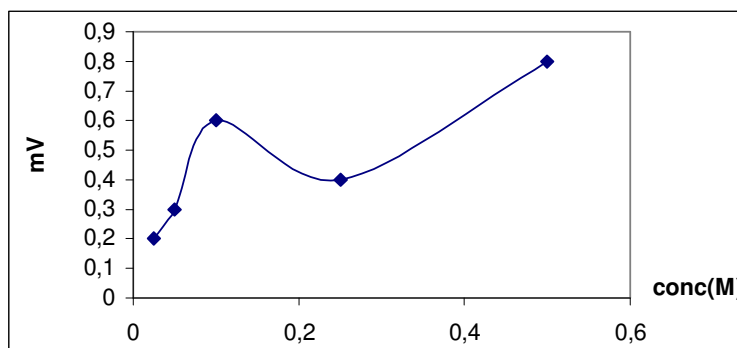
**Tabla LI**

pH	$I_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
2	0,3	424
3	4,4	376
4	2,9	324
5	2,7	272
6	1,9	208
7	1,4	156
8	1,5	108
9	0,2	52
10	1,7	10

La pendiente de la recta de la ecuación indica que el proceso electroquímico se intercambian el mismo número de electrones que de protones.

## 2.-Fuerza iónica

Una vez elegido el pH más adecuado, pH 3, se llevó a cabo el estudio de la posible influencia de la concentración de tampón en el proceso electroquímico, en el rango de concentraciones de tampón fosfato comprendido entre 0.025M y 0.5M.



**Figura 89**

### **Variación de la intensidad de onda frente a la fuerza iónica**

**Condiciones:** pH=3; concentración de TDA= 1ug/mL; tiempo de acumulación= 120s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =10 °C; step= 1mV; amplitud de impulsos: 50mV y frecuencia: 100Hz

Como se puede observar en la figura 89 el valor de fuerza iónica correspondiente a 0.5M es el que proporciona la señal más intensa, siendo por tanto este el valor el que se empleará en la posterior determinación electroquímica. El potencial de pico se mantiene prácticamente constante.

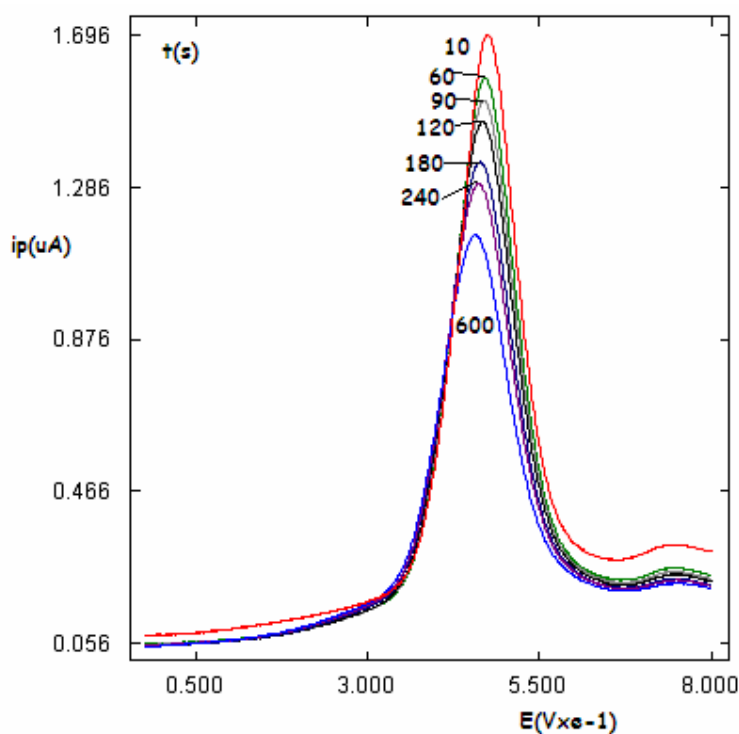
### 3.- Tiempo de acumulación

Se realiza este estudio para comprobar si dada la estructura de la molécula podría existir un proceso de quimiadsorción.

Los voltagramas obtenidos en este estudio para los distintos tiempos de acumulación se encuentran representados en la figura 90 y sus datos en la tabla LII.

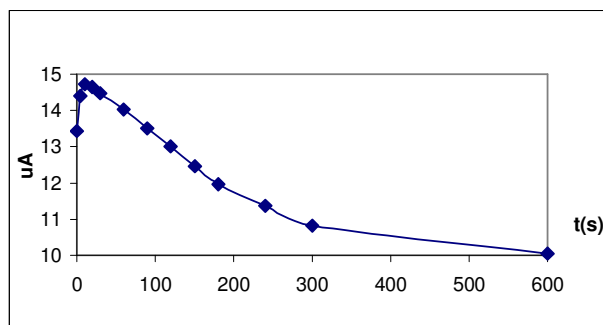
Como puede observarse en las figuras 90 y 91, a los primeros 10 segundos el valor de la intensidad de pico se mantiene prácticamente constante, al igual que el potencial de pico, obteniéndose además, a este tiempo de acumulación, el pico mejor definido.

A medida que aumenta el tiempo de contacto de la disolución con el electrodo, se observa una disminución de la intensidad de corriente, lo que es indicativo de una posible adsorción de la molécula, disminuyendo la superficie activa del electrodo. Dado que el aporte de materia se produce por difusión (como se comprueba posteriormente), la disminución de la superficie activa proporciona menores intensidades de corriente.



**Figura 90**  
**Influencia del tiempo de acumulación**

**Condiciones:** pH=3 concentración de TDA= 1ug/mL; potencial de acumulación =0mV; temperatura =10 °C; step= 1mV; amplitud de impulsos: 50mV y frecuencia:100Hz



**Figura 91**  
**Variación de la intensidad de onda frente al tiempo de acumulación**

**Tabla LII**

t(s)	Ip(uA)	Ep(mV)
0	13,42	474
5	14,41	477
10	14,72	475
20	14,64	474
30	14,47	472
60	14,035	474
90	13,50	469
120	13,0068	467
150	12,45	465
180	11,97	464
240	11,36	462
300	10,83	459
600	10,037	457

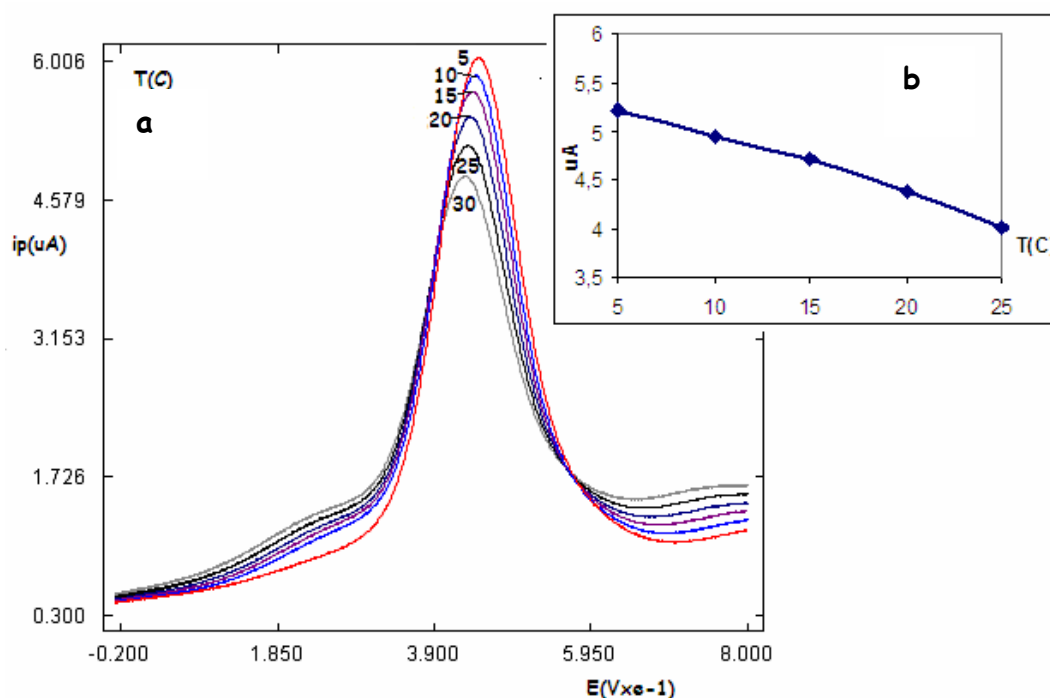
Se ha estudiado la posible influencia del potencial de acumulación, encontrándose que es necesario aplicar un valor de potencial de 0mV frente al electrodo de referencia, ya que potenciales superiores producen la misma intensidad de pico, mientras que a valores de potencial de acumulación inferiores la intensidad disminuye.



#### 4.- Temperatura

Como se ha indicado en estudios anteriores es necesario mantener la temperatura estable, para así obtener resultados reproducibles. Esto es muy importante sobre todo cuando el electrodo de oro se encuentra modificado.

El rango de temperaturas estudiado se encuentra comprendido entre 5 y 30° C, obteniéndose picos más intensos a temperaturas bajas, concretamente a 5° C, como puede observarse en las figuras 92 a y 92 b, en las que se puede observar que a medida que se incrementa la temperatura disminuye la intensidad de pico, aunque sea lentamente.



**Figura 92**  
**Influencia de la temperatura**

**Condiciones:** pH=3 concentración de TDA= 1ug/mL; tiempo de acumulación= 60s; potencial de acumulación =0mV; step= 1mV; amplitud de impulsos: 50mV y frecuencia:100Hz

Los datos correspondientes a este estudio se encuentran recogidos en la tabla LIII.

**Tabla LIII**

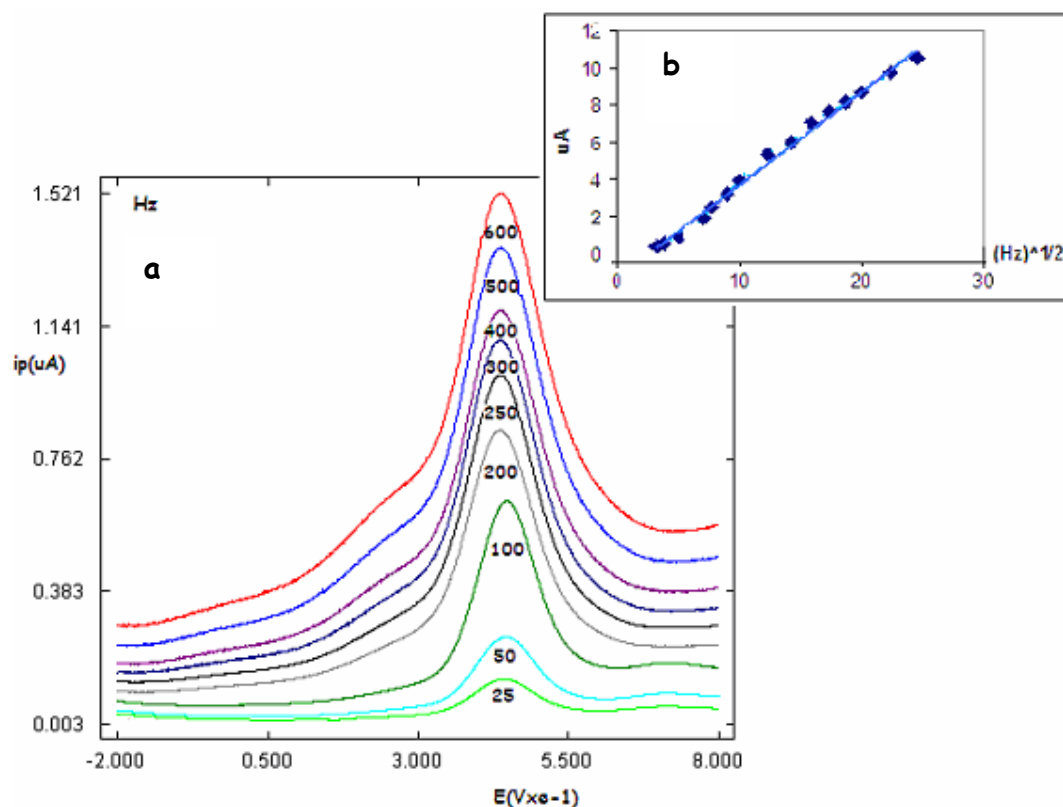
T(°C)	$i_p$ (uA)	$E_p$ (mV)
5	5,210	448
10	4,95	443
15	4,72	441
20	4,38	438
25	4,016	435

## Variables instrumentales

### 5.-Influencia de la frecuencia

El estudio de la frecuencia aplicada en voltametría de onda cuadrada proporciona información acerca del proceso de transferencia de materia al electrodo, pues como es sabido, si la frecuencia se ajusta linealmente a la raíz cuadrada está indicando que el proceso está controlado por difusión, o bien si se ajusta al logaritmo de la frecuencia el proceso está controlado por adsorción.

El método seguido en el estudio de las variables instrumentales es el mismo que se siguió en el caso de las variables químicas como es el pH, manteniéndose fijas todas las variables a excepción de la que se quiere estudiar. Las condiciones en la que se llevó a cabo en estudio están indicadas en el pie de figura.



**Figura 93**  
**Influencia de la frecuencia**

**Condiciones:** pH=3; concentración de TDA= 1 $\mu$ g/mL; tiempo de acumulación= 60s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 °C; step= 1mV; amplitud de impulsos: 50mV

Como puede observarse en la figura 93 a, las ondas mejor definidas, es decir, aquellas que poseen menor anchura de semipico, corresponden a los valores de frecuencia de 200, 250 y 300Hz, siendo el que corresponde a 200Hz, el que se observa con mayor definición. Por tanto este es el valor de frecuencia elegido.

También puede comprobarse en la figura 93 b y en la tabla LX, que el potencial de pico se mantiene prácticamente constante, de manera que el proceso es reversible.

Si se representa la intensidad de pico frente a la frecuencia (figura 93b), se observa que sigue una tendencia lineal que se ajusta a la raíz cuadrada según la ecuación:

$$i_p(\mu A)=0.499f^{1/2}(Hz)-1,259$$

Se llega a la conclusión de que el proceso electroquímico en el electrodo de oro es reversible y controlado por difusión.

**Tabla LIV**

Frecuencia(Hz)	$i_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
10	0,37	436
15	0,54	441
25	0,98	443
50	1,92	447
60	2,48	433
80	3,20	435
100	3,95	447
150	5,34	435
200	5,96	437
250	7,05	438
300	7,60	438
350	8,11	436
400	8,70	437
500	9,75	437
600	10,53	437

## 6.- Influencia del step (escalón de potencial)

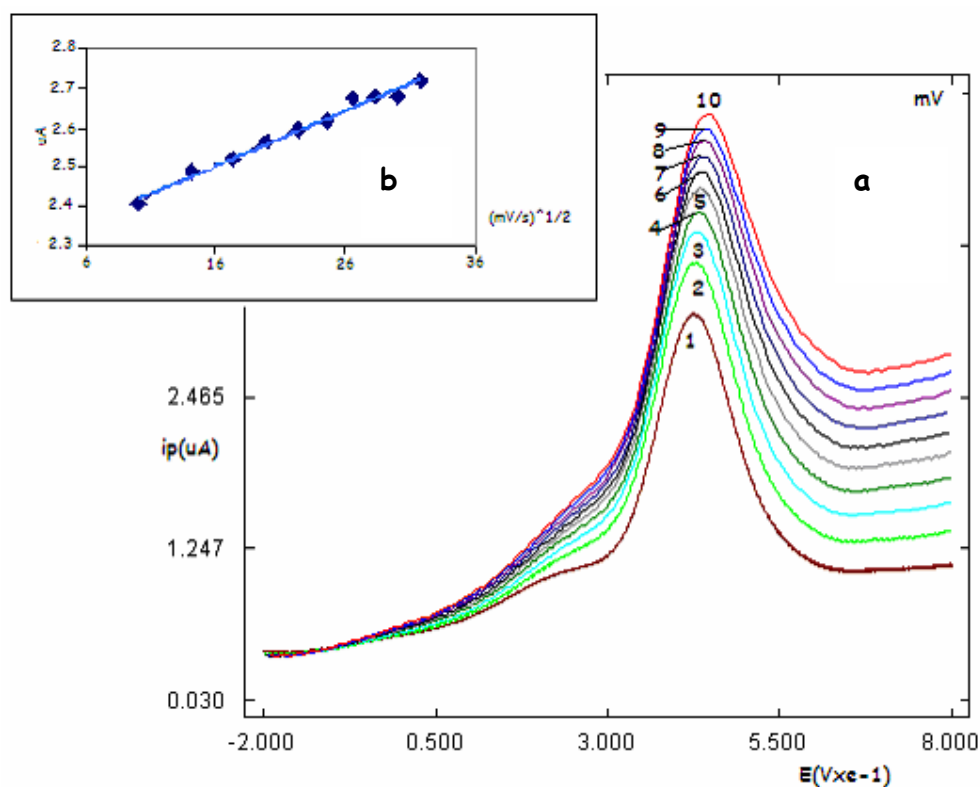
Para este estudio, como siempre, se mantienen constantes todas las variables a excepción de la que corresponde al step, la cual se variará en el rango comprendido entre 1 y 10 mV, lo que, bajo las condiciones a las que se realizó el estudio, corresponde a una velocidad de barrido comprendida entre 100 y 1000 mV/s.

La diferencia de intensidades tiene su valor mínimo y máximo en 2,25  $\mu\text{A}$  y 2,68  $\mu\text{A}$  respectivamente.

Como se puede observar en la figura 94 y en la tabla LV, el potencial se mantiene prácticamente constante, ajustándose su variación a la ecuación:

$$E(\text{mV}) = 0.022v(\text{mV/s}) + 423.05$$

mientras que la anchura de semipico aumenta notablemente.



**Figura 94**  
**Influencia del step**

**Condiciones:** pH=3; concentración de TDA= 1 $\mu\text{g/mL}$ ; tiempo de acumulación= 60s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5  $^{\circ}\text{C}$ ; amplitud de impulsos: 50mV; frecuencia= 100Hz

En la figura 94 b, puede observarse que la variación de la intensidad de pico con la velocidad de barrido se ajusta linealmente a la raíz cuadrada según la ecuación:

$$i_p(\mu A)=0.0139v^{1/2}(\text{mV/s})+2,28$$

Siendo el pico que aparece mejor definido el que corresponde a un valor de step de 2mV o a una velocidad de barrido de 200mV/s.

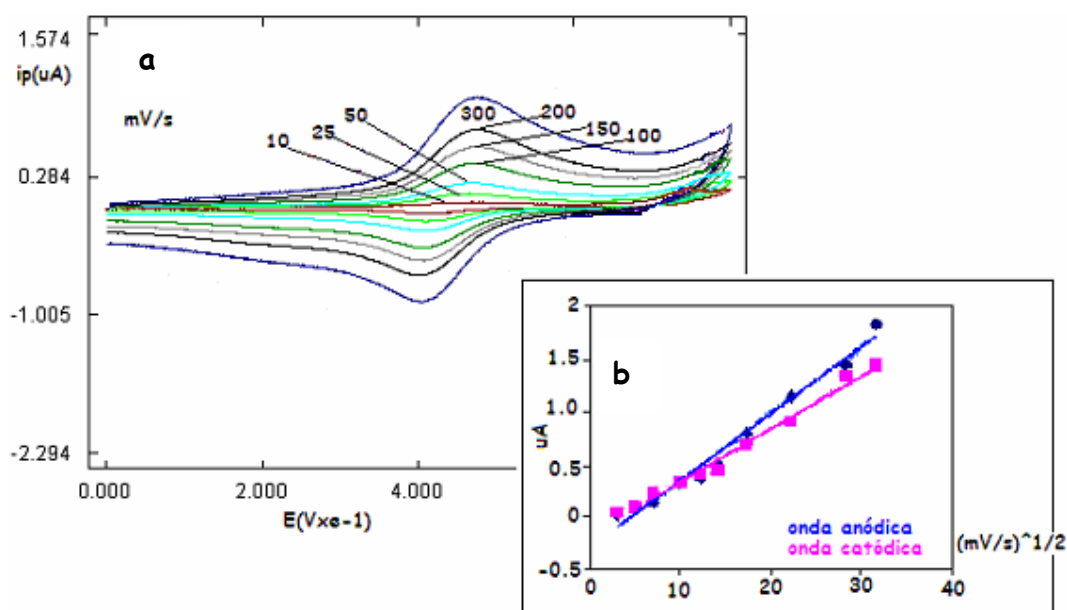
**Tabla LV**

<b>mV</b>	<b>mV/s</b>	<b>Ip(μA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>1</b>	<b>100</b>	2,25	424,7
<b>2</b>	<b>200</b>	2,49	428
<b>3</b>	<b>300</b>	2,58	430
<b>4</b>	<b>400</b>	2,60	432
<b>5</b>	<b>500</b>	2,67	435
<b>6</b>	<b>600</b>	2,67	436
<b>7</b>	<b>700</b>	2,67	437
<b>8</b>	<b>800</b>	2,68	440
<b>9</b>	<b>900</b>	2,67	442,3
<b>10</b>	<b>1000</b>	2,59	446,6

## 7.- Estudio de la velocidad de barrido en voltametría cíclica

El fin que tiene el estudio de la velocidad de barrido, en este caso en voltametría cíclica, es poder determinar el mecanismo de oxidación de la 4,4'-tiodianilina (TDA).

En la figura 95 a, aparecen recogidos los voltagramas correspondientes a la TDA, de cuyo análisis puede deducirse que a velocidades de barrido inferiores a 200mV/s la diferencia de potencial entre la onda anódica y la catódica es del orden de 0.059V, como puede comprobarse en los datos registrados en la tabla LVI, indicando que el proceso de oxidación es reversible.



**Figura 95**

### Influencia de la velocidad de barrido

**Condiciones:** pH=3; concentración de TDA= 10ug/mL; temperatura =5°C ;potencial inicial=0mV; potencial final=0mv; switching potencial=800mV

Como se puede observar en la figura 95 b, la onda anódica y la catódica se ajustan linealmente a la raíz cuadrada según las ecuaciones:

$$\text{Onda anódica: } ip(\text{uA}) = 0.064v^{1/2}(\text{mV/s}) - 0.29$$

$$\text{Onda catódica: } ip(\text{uA}) = 0.0504v^{1/2}(\text{mV/s}) - 0.11$$

Estos resultados indican que el proceso que es químicamente reversible y que está controlado por difusión.

**Tabla LVI**

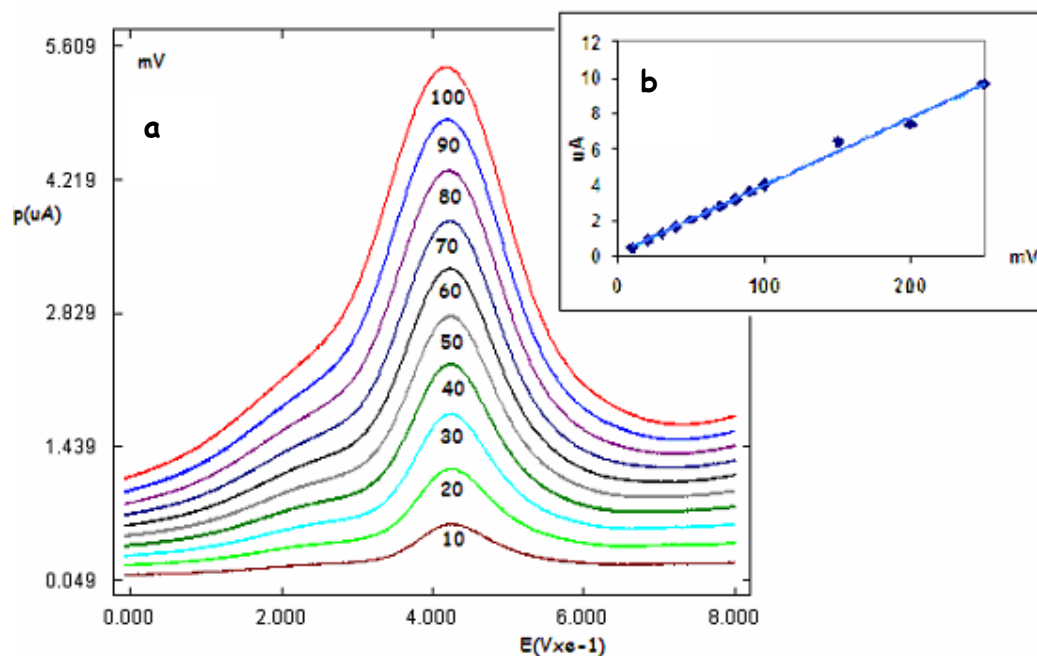
onda anódica			onda catódica			mV1-mV2
mV/s	uA	mV	mV/s	uA	mV	
<b>10</b>	0,027	467,1	<b>10</b>	0,046	410,7	56,4
<b>25</b>	0,088	470,7	<b>25</b>	0,097	411	59,7
<b>50</b>	0,15	469	<b>50</b>	0,24	410	59
<b>100</b>	0,33	472	<b>100</b>	0,33	407	65
<b>150</b>	0,39	471,6	<b>150</b>	0,41	406	65,6
<b>200</b>	0,49	475	<b>200</b>	0,45	409	66
<b>300</b>	0,80	476	<b>300</b>	0,69	406	70

Estos resultados por voltametría cíclica confirman los obtenidos anteriormente mediante voltametría de onda cuadrada, esto es que el proceso de oxidación de la 4,4'-tiodianilina (TDA) es electroquímicamente reversible y controlado por difusión.

## 8.- Influencia de la amplitud de impulsos

El procedimiento que se ha seguido es el mismo de todos los estudios realizados anteriormente, obteniéndose los voltagramas en voltametría de onda cuadrada que se encuentran recogidos en la figura 96 a, así como la representación gráfica de la intensidad de pico en función de la amplitud de impulsos (figura 96 b), la cual sigue una tendencia lineal que se ajusta a la ecuación:

$$i_p(\mu A)=0.038\Delta E(mV)+0,16$$



**Figura 96**  
**Influencia de la amplitud de impulsos**

**Condiciones:** pH=3; concentración de TDA= 1 $\mu$ g/mL; tiempo de acumulación= 60s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 $^{\circ}$ C ; step= 1mV; frecuencia= 100Hz

Se observa que al incrementar la amplitud de impulsos aumenta la anchura de la semipico perdiendo de esta manera selectividad. Por lo que el valor de amplitud de impulsos que proporciona el pico mejor definido corresponde a 50mV.

El potencial se mantiene prácticamente constante, como puede verse en la figura superior (Fig. 96 a) y en la tabla LVII, donde aparecen registrados los datos correspondientes a este estudio.



**Tabla LVII**

<b>Amplitud(mV)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>10</b>	0,46	422
<b>20</b>	0,88	421
<b>30</b>	1,29	426
<b>40</b>	1,68	424
<b>50</b>	2,057	424
<b>60</b>	2,42	421
<b>70</b>	2,79	422
<b>80</b>	3,19	422
<b>90</b>	3,60	421
<b>100</b>	4,017	416
<b>150</b>	6,40	404
<b>200</b>	7,40	390
<b>250</b>	9,65	386

## 9.- Influencia de la concentración

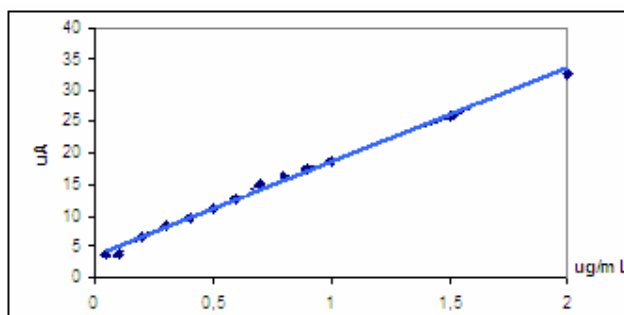
Una vez que establecidas las condiciones óptimas, y que se resumen a continuación:

**Condiciones:** pH=3; fuerza iónica =0.5M; temperatura =5 °C; tiempo de acumulación =10s; potencial de acumulación =0mV; potencial inicial =0mV; potencial final =800mV; step =2mV; amplitud de impulsos =50 mV; frecuencia =200Hz

Se realiza el estudio de la variación de la intensidad de pico con la concentración de TDA. Los valores obtenidos se encuentran recogidos en la tabla LVIII, representados en la gráfica 97 se ajustan a la ecuación:

$$i_p(\mu A)=14,93C(\mu g/mL)+3.57$$

$$R^2=0.995$$



**Figura 97**  
Variación de la intensidad frente a la concentración

**Tabla LVIII**

<b>ug/mL</b>	<b>uA</b>	<b>mV</b>
<b>0,05</b>	3,80	472
<b>0,1</b>	3,80	486
<b>0,2</b>	6,50	484
<b>0,3</b>	8,31	486
<b>0,4</b>	9,50	484
<b>0,5</b>	11,20	484
<b>0,6</b>	12,70	480
<b>0,7</b>	14,96	480
<b>0,8</b>	16,21	478
<b>0,9</b>	17,49	474
<b>1,0</b>	18,76	474
<b>1,5</b>	25,80	472
<b>2,0</b>	32,60	470
<b>2,5</b>	21,79	470
<b>3,0</b>	22,61	470
<b>3,5</b>	23,40	466
<b>4,0</b>	24,033	466
<b>4,5</b>	24,49	468
<b>5,0</b>	23,67	466

La recta es lineal para los valores comprendidos entre 0.05 µg/mL y 2 µg/mL, perdiendo la linealidad a valores de concentración superiores.

Realizados los estudios de exactitud y precisión. Los valores obtenidos tienen una exactitud de 0.019 % (error relativo) y una precisión de 3.00% (desviación estándar relativa), calculados para una concentración de 0.4 µg/mL y 10 medidas.

Los límites de detección y determinación son 0.054 y 0.34 µg/mL; viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.



## **Estudios con el electrodo de oro modificado**



## Estudios con el electrodo modificado con C18

### 1.- Influencia de la concentración de modificador.

Al igual que con los otros compuestos estudiados, el primer estudio que se realiza es la determinación de la concentración óptima de modificador, di-n-octadecildisulfuro, con el fin de conocer el grado de recubrimiento de la superficie del electrodo de oro. Así como el tamaño de los canales de acceso a la superficie del mismo, y analizar la influencia en la oxidación electroquímica de la 4,4'-tiodianilina en su superficie.

En la realización de este estudio se ha empleado un rango de concentraciones de C<sub>18</sub> comprendido entre  $10^{-3}$  y  $10^{-6}$  mol/L, siendo el disolvente tetrahidrofurano (THF).

Los voltagramas obtenidos, manteniendo unas condiciones semejantes al estudio previo realizado con el electrodo sin modificar, se encuentran representados en la figura 98.

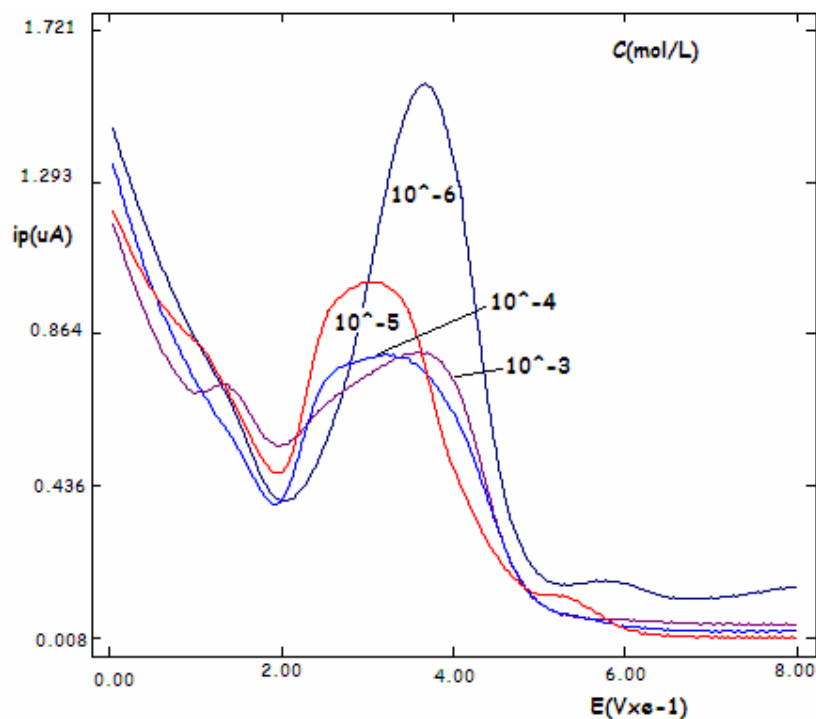


Figura 98

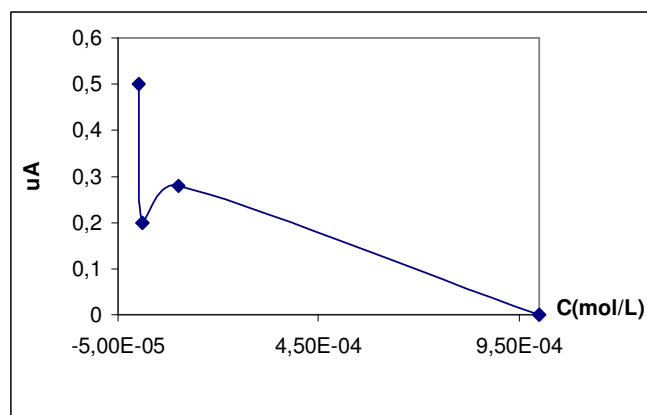
**Influencia de la concentración de modificador frente a la intensidad**

**Condiciones:** pH=3; tiempo de modificación =5min; tiempo de acumulación=10s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 °C ;step=2mV; amplitud de impulsos=50mV; frecuencia=200Hz

Viendo la morfología de los voltagramas de dicha figura se observa que, la concentración de  $C_{18}$  que proporciona la señal mejor definida, es decir, mayor intensidad de pico y menor anchura de semionda, corresponde a  $10^{-6}$  M.

Lo que se puede comprobar en la figura 99 y en la tabla LIX, donde se representa la variación de la intensidad y el potencial de pico en función de la concentración de modificador.

Esto significa que a esta concentración de modificador se forman los canales de acceso restringido a la superficie del electrodo del tamaño más adecuado para llevar a cabo la oxidación de la 4,4'-diaminodifenil sulfuro. Mientras que a concentraciones superiores no se obtiene señal, o esta es muy poco intensa debido a que la superficie electroactiva se ha cubierto casi en su totalidad y el acceso de las moléculas de TDA se encuentra impedido para llevar a cabo su oxidación electroquímica, bien por un estrechamiento del canal al ser adsorbidas un mayor número de moléculas de modificador, o por un aumento de la interacción entre el modificador y el compuesto. Estando éste retenido en el modificador, ya que se trata de sustancias con polaridades semejantes.



**Figura 99**  
Variación de la intensidad de pico frente a la concentración de modificador.

**Tabla LIX**

C(mol/L)	Ip(uA)	Ep(mV)
1,00E-03	0	366
1,00E-04	0,28	372
1,00E-05	0,20	355
1,00E-06	0,50	384



## 2.- Influencia del tiempo de modificación.

A través de este estudio determinamos el periodo de tiempo más adecuado durante el cual han de estar en contacto la disolución de modificador y el electrodo de oro con que estamos trabajando, para que, se formen los canales de acceso a la superficie de dicho electrodo.

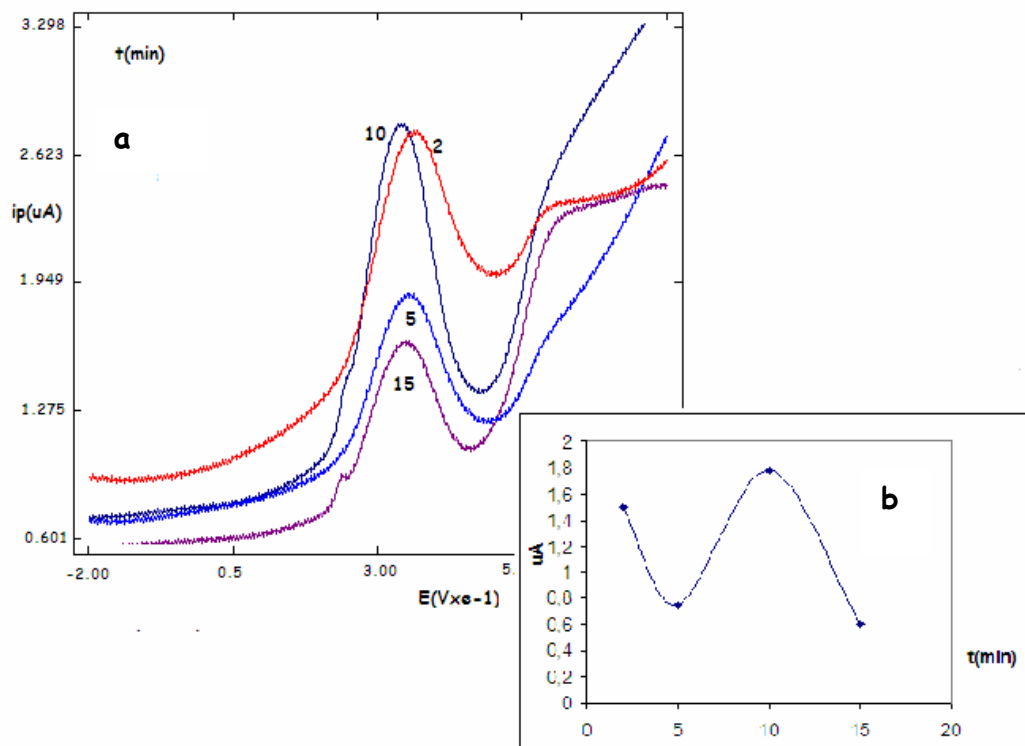


Figura 100

### Influencia del tiempo de modificación frente a la intensidad

**Condiciones:**  $pH=3$ ; concentración de modificador  $=10^{-6} \text{ min}$ ; tiempo de acumulación  $=10 \text{ s}$ ; potencial de acumulación  $=0 \text{ mV}$ ; temperatura  $=5^\circ \text{C}$ ; step  $=2 \text{ mV}$ ; amplitud de impulsos  $=50 \text{ mV}$ ; frecuencia  $=200 \text{ Hz}$

Como puede observarse en los voltagramas de la gráfica (Fig. 100 a), la intensidad de pico varía con el tiempo de modificación, lo que manifiesta que la especie electroactiva objeto de análisis llega a la superficie del electrodo produciéndose su acumulación. Mientras que el potencial de pico se mantiene prácticamente constante, como puede verse en la figura superior (Fig. 100 a) y en la tabla LX.

Al observar la figura 100 b, se deduce que con un tiempo de modificación de diez minutos se obtiene la señal más intensa y mejor definida. A tiempos de modificación inferiores, como ocurre a los dos minutos no se obtiene una señal tan intensa porque los canales de acceso restringido no se han formado completamente, lo que se observa por la aparición de la segunda onda a potenciales más positivos. Idéntico a lo obtenido con el

electrodo sin modificar, pero peor definida, a tiempos superiores, como es a los quince minutos, la señal es menos intensa y está menos definida porque la superficie electroactiva del electrodo se ha cubierto casi en su totalidad, impidiendo de esta manera que la molécula cuyo comportamiento electroquímico estamos estudiando acceda a la superficie del electrodo, con lo que de esta manera no se producirá la oxidación electroquímica.

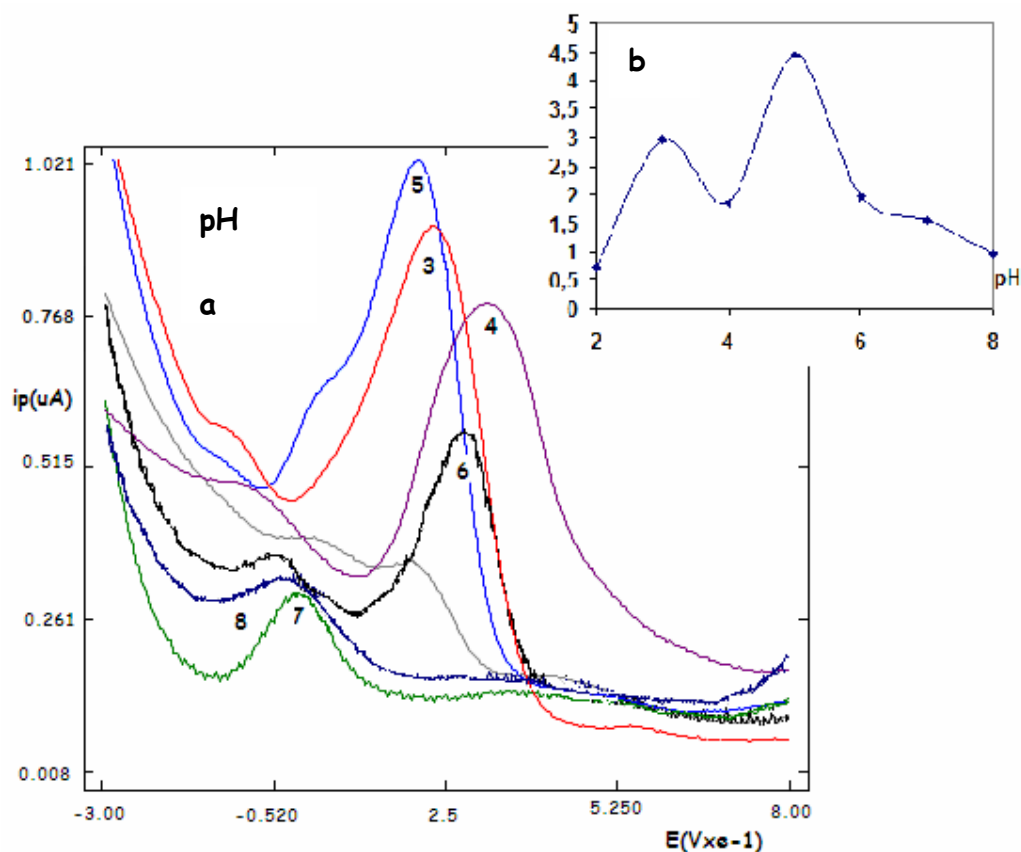
La reacción electroquímica que se observa, es debida posiblemente a las moléculas que se encuentran retenidas por el modificador y que se pueden encontrar en las proximidades de la zona de intercambio electrónico, el cual posiblemente sea debido a un efecto túnel.

**Tabla LX**

<b>t(min)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>2</b>	1,50	360
<b>5</b>	0,75	352
<b>10</b>	1,78	358
<b>15</b>	0,60	350

### 3.-Influencia del pH.

Al igual que en estudios anteriores, el rango de pH empleado se encuentra comprendido entre pH 2 y pH 11 y empleando las mismas disoluciones reguladoras.



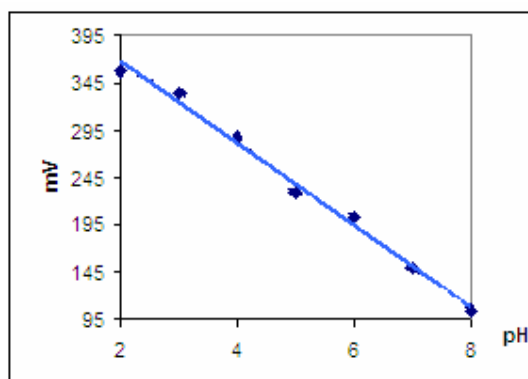
**Figura 101**  
**Influencia del pH**

**Condiciones:** concentración de  $C_{18} = 10^{-6}M$ ; tiempo de modificación = 10 min; tiempo de acumulación = 10s; potencial de acumulación = 0mV; temperatura = 5°C; step=2mV; amplitud de impulsos=50mV; frecuencia=200Hz

Como puede deducirse de las figuras 101 a y 101 b, es a pH 3 cuando se obtiene la onda mejor definida. Al igual que en los compuestos anteriores, al virar el pH hacia valores alcalinos o básicos, pH 7 y 8, el potencial al que aparece la TDA se desplaza a valores más negativos, mientras que para valores de pH superiores a 8 no se obtiene señal.

Si se representa gráficamente el potencial de pico frente a los distintos valores de pH (figura 102), se observa que el potencial sigue una tendencia lineal con una pendiente negativa ajustándose a la siguiente ecuación:

$$E(mV)=454.04-43.32pH$$



**Figura 102**  
**Variación del potencial de pico frente al pH**

Los datos correspondientes a este estudio aparecen reflejados en la tabla LXI.

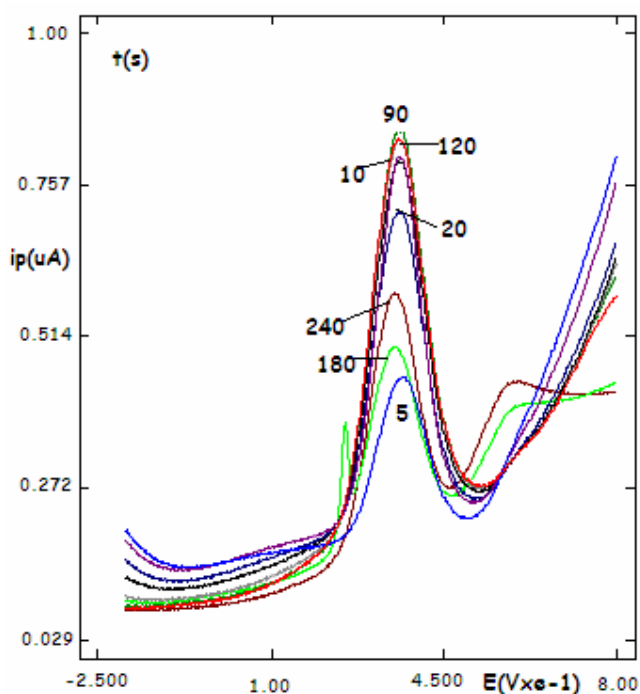
**Tabla LXI**

pH	Ip(uA)	Ep(mV)
2	0,70	357
3	2,97	334
4	1,86	287
5	4,45	228
6	1,97	203
7	1,54	149
8	0,95	104

#### 4.- Tiempo de acumulación.

Mediante el estudio de esta variable se pretende , como en los otros compuestos estudiados, disminuir los límites de detección con el objetivo de poder determinar nuestro compuesto a concentraciones bajas.

Al igual que en el caso de la 4,4'-diaminodifenilamina y del 4,4'-diamindifenil éter, se mantiene fijo el valor del potencial (200mV) y se varía el tiempo, encontrándose la disolución bajo agitación constante.



**Figura 103**  
**Influencia del tiempo de acumulación**

Condiciones:  $pH=3$ ; concentración de modificador  $=10^{-6} \text{ min}$ ; tiempo de acumulación  $=10 \text{ s}$ ; potencial de acumulación  $=0 \text{ mV}$ ; temperatura  $=5^\circ \text{ C}$ ; step  $=2 \text{ mV}$ ; amplitud de impulsos  $=50 \text{ mV}$ ; frecuencia  $=200 \text{ Hz}$

Como se puede ver en la figura 103, el tiempo de acumulación más adecuado corresponde a 120 segundos, ya que es cuando se obtiene la onda más intensa y es a partir de este tiempo de acumulación cuando se obtienen intensidades de pico muy similares al variar el tiempo de acumulación, es decir, el valor de la intensidad se mantiene constante. Esto parece indicativo de la posible saturación del electrodo, como puede verse en la figura 104 a y 104 b, así como en la tabla LXII, donde se encuentran los valores de intensidad y potencial de pico para los distintos tiempos de acumulación.

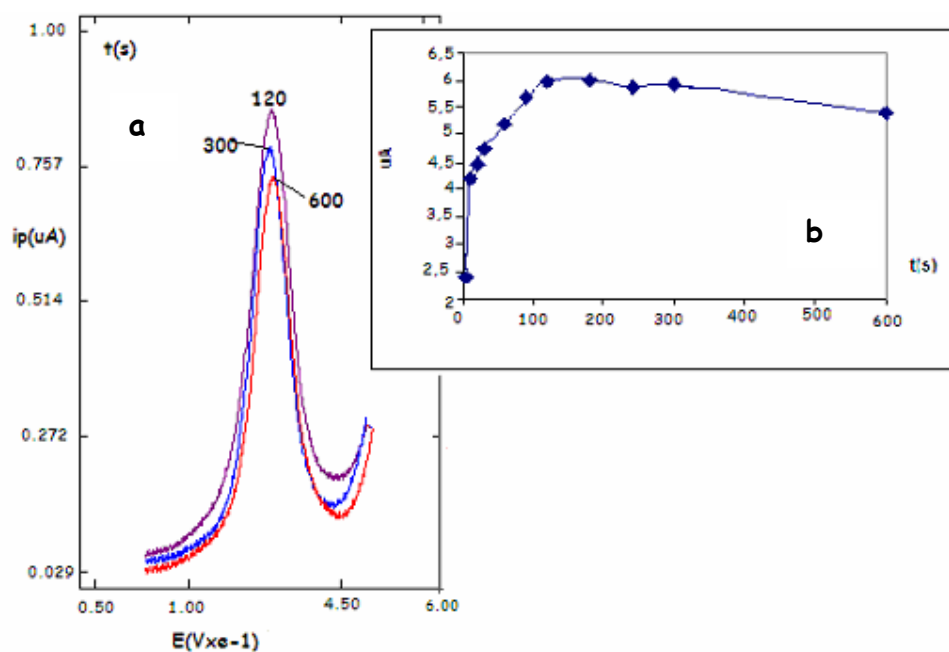


Figura 104

**Influencia del tiempo de acumulación frente a la intensidad**

Condiciones:  $pH=3$ ; concentración de modificador  $=10^{-6} \text{ mol/L}$ ; tiempo de acumulación  $=10 \text{ s}$ ; potencial de acumulación  $=0 \text{ mV}$ ; temperatura  $=5^\circ \text{C}$ ; step  $=2 \text{ mV}$ ; amplitud de impulsos  $=50 \text{ mV}$ ; frecuencia  $=200 \text{ Hz}$

Tabla LXII

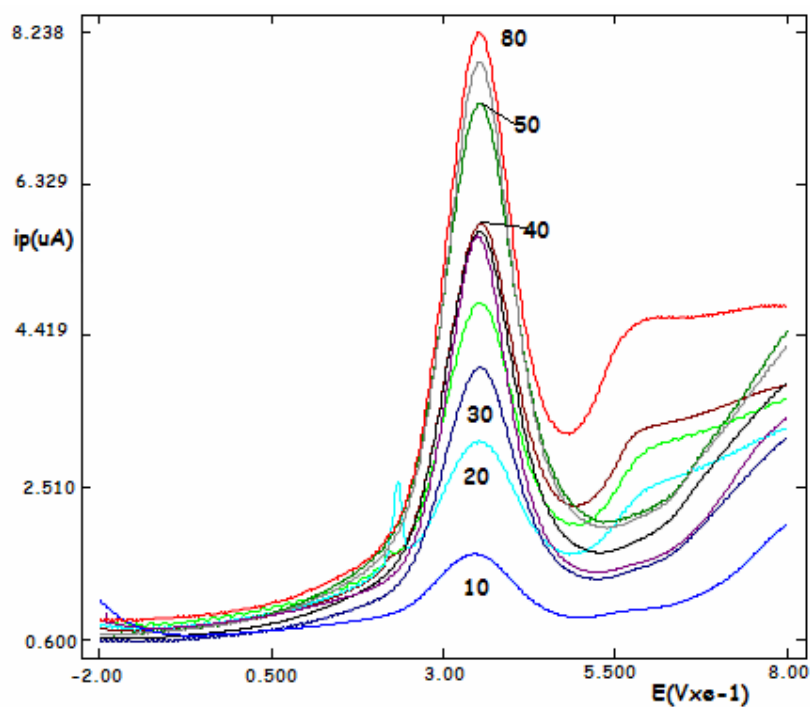
t(s)	$i_p(\mu A)$	$E_p(\text{mV})$
5	0,41	306
10	1,24	292
20	1,34	300
30	1,50	300
60	1,80	304
90	2,70	294
120	2,81	290
180	2,70	286
240	2,57	286
300	2,57	286
600	2,40	292

## Variables instrumentales

### 5.- Influencia de la frecuencia

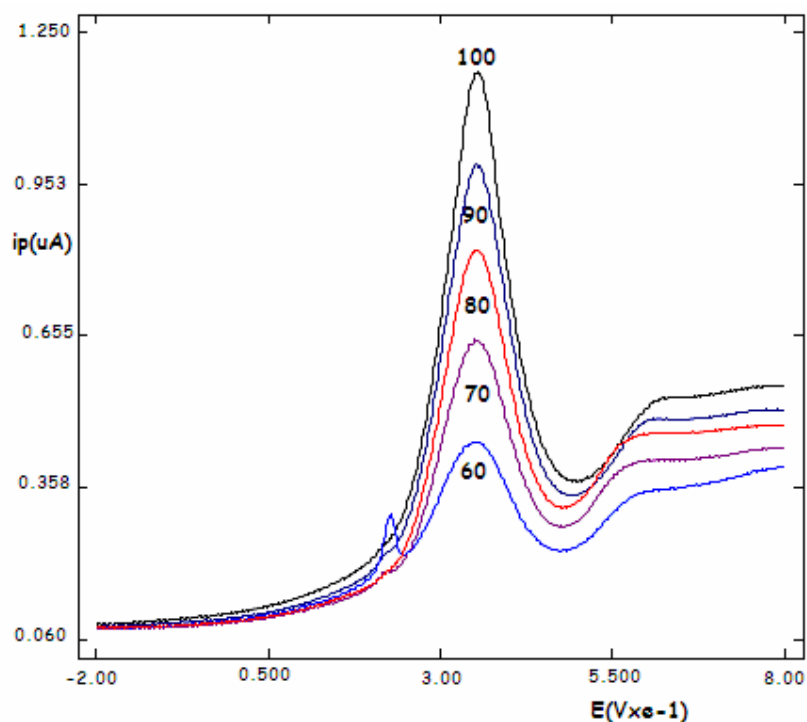
El procedimiento que se ha seguido en este estudio es el mismo que el empleado en todos los casos anteriores, es decir se mantienen constantes todas las variables a excepción de la frecuencia.

Los voltagramas obtenidos para los distintos valores de frecuencia, comprendidos entre 10 y 100Hz se encuentran representados en las figuras 105 y 106.



**Figura 105**  
**Influencia de la frecuencia**

**Condiciones:** pH=3; concentración de  $C_{18}=10^{-6}M$ ; tiempo de modificación = 10 min; tiempo de acumulación= 10s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5°C ;step=2mV; amplitud de impulsos=50mV;



**Figura 106**  
**Influencia de la frecuencia**

**Condiciones:** pH=3; concentración de  $C_{18}=10^{-6}M$ ; tiempo de modificación = 10 min; tiempo de acumulación = 10s; potencial de acumulación = 0mV; temperatura = 5 °C ;step= 2mV; amplitud de impulso s=50mV

La onda mejor definida, es decir aquella que posee menor anchura de semipico, se obtiene bajo una frecuencia de 80Hz, como puede comprobarse en ambas figuras, correspondiendo la primera a los valores de frecuencia más bajos y por tanto con menor velocidad de barrido.

En la representación de la intensidad de pico frente a la frecuencia (figura 107) encontramos que dichos valores se ajustan linealmente a la raíz cuadrada según la ecuación:

$$I_p(\mu A) = 0.67f^{1/2}(\text{Hz}) - 0.98$$

por lo que, el proceso de oxidación electroquímica se da a través de difusión, como ocurriría cuando el electrodo no era sometido a modificación.

El potencial de pico se mantiene constante al modificar la frecuencia, siendo esto indicativo de la reversibilidad del proceso (tabla LXIII).



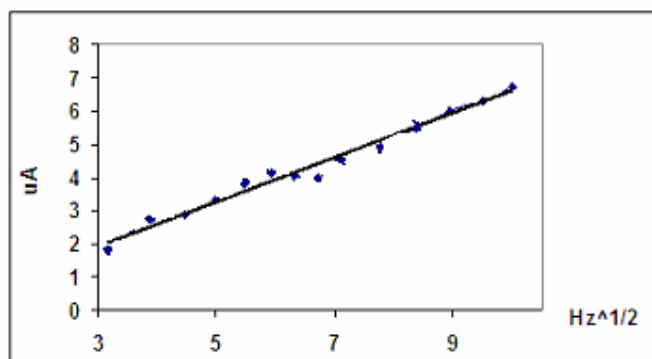


Figura 107

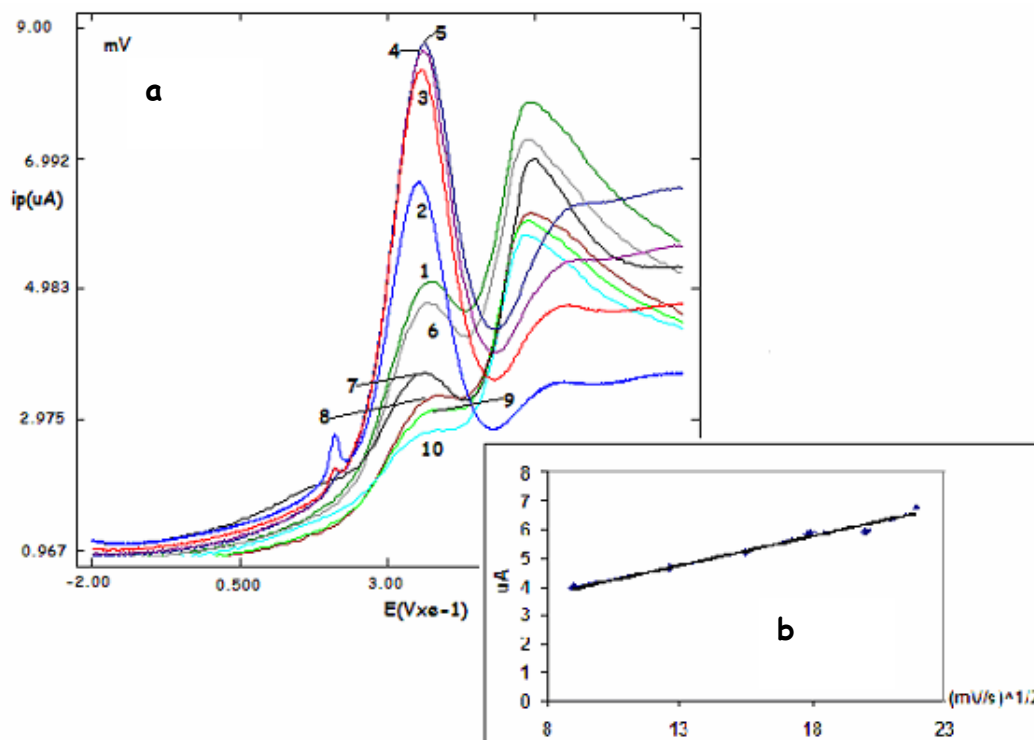
Variación de la intensidad de pico respecto a la frecuencia

Tabla LXIII

Hz	Ip(uA)	Ep(mV)
10	0,90	346
15	4,80	348
20	2,90	352
25	4,30	352
30	6,20	352
35	5,60	352
40	1,40	352
45	3,10	359
50	3,90	354
60	2,20	348
70	4.00	350
80	5,50	352
90	7.00	352
100	8,60	354

## 6.- Influencia del step (escalón de potencial)

El step se modificará dentro de un rango comprendido entre 1mV y 10mV, lo que equivale a un intervalo de velocidades de barrido entre 80 mV/s y 800mV/s, siendo los valores de intensidad de pico mínimo y máximo 4.00 $\mu$ A y 6.80 $\mu$ A respectivamente. El pico mejor definido se obtiene para un valor de step de 2 mV.



**Figura 108**  
**Influencia del step**

**Condiciones:** pH=3; concentración de  $C_{18}=10^{-6}$ M; tiempo de modificación = 10 min; tiempo de acumulación= 10s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 °C; amplitud de impulsos=50mV; frecuencia=200Hz

Como puede observarse en la figura 108 a, a partir de un valor de step de 6mV la onda correspondiente a la TDA disminuye en intensidad. A un potencial de 550mV aparece una segunda onda que al incrementarse la velocidad de barrido aumenta la intensidad de pico.

En la figura 108 b, donde se ha representado la variación de la intensidad de pico frente al step, se observa que la variación del step tiene una tendencia lineal ajustándose a la raíz cuadrada según la ecuación:

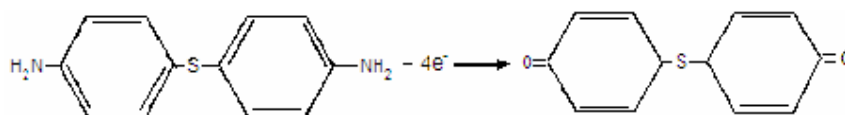
$$ip(\mu A)=0.20v^{1/2}(mV/s)+2.11$$

por lo que el proceso de oxidación electroquímica está controlado por difusión, al igual que en el caso de la frecuencia.

Este comportamiento es el esperado ya que el step está relacionado con la velocidad de barrido.

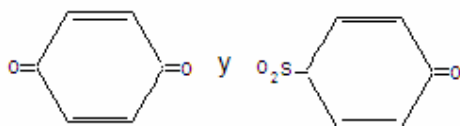
La aparición de la segunda onda para incrementos de potencial altos puede ser debido a que en una primera etapa se produce la oxidación del grupo amino, y dado que el producto de la oxidación se encuentra retenido en el modificador se produce una segunda oxidación.

La primera etapa es reversible y el producto de la oxidación queda retenido en las proximidades del electrodo, pudiendo ser el derivado aniónico correspondiente



**Figura 109**

en la segunda etapa se producirá la oxidación a



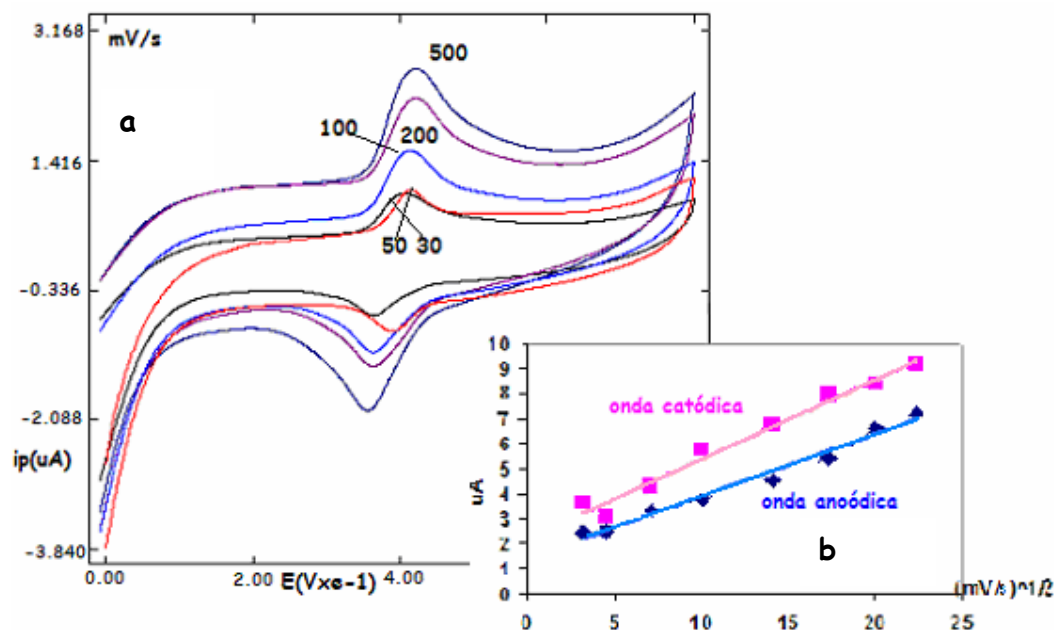
**Figura 110**

con rotura de la molécula.

Estos hechos no pueden comprobarse dado que es muy difícil la recogida de los productos de oxidación y su caracterización por espectrometría de masas.

## 7.- Velocidad de barrido en voltametría cíclica

Se realiza el estudio de la velocidad de barrido en voltametría cíclica con el objetivo de conocer el mecanismo de la reacción de oxidación electroquímica de la 4,4'-tiodianilina.



**Figura 111**  
**Influencia de la velocidad de barrido**

**Condiciones:** pH=3; concentración de TDA= 10ug/mL; temperatura =5 °C; potencial inicial=0mV; potencial final=0mV; switching potencial=800mV

En la figura 111 a, aparecen recogidos los voltagramas correspondientes a distintas velocidades de barrido, así como en la figura 111 b, la representación gráfica de la variación de la intensidad de pico frente a la velocidad de barrido para las dos ondas, anódica y catódica. Observándose que ambas siguen una tendencia lineal que se ajusta a las ecuaciones:

$$\text{onda anódica: } ip(\mu A) = 0.24v^{1/2}(\text{mV/s}) + 1.42$$

$$\text{onda catódica: } ip(\mu A) = 0.031v^{1/2}(\text{mV/s}) + 2.25$$

lo que indica que se intercambia el doble número de electrones que de protones.

En la siguiente tabla (Tabla LXIV), aparecen recogidos los datos obtenidos en este estudio, donde se observa que la diferencia de potencial entre la onda anódica y la catódica es inferior a 0.03V, lo que indica que el proceso es químicamente reversible; y como la variación de la intensidad de pico frente a la velocidad de barrido se ajusta linealmente a la raíz cuadrada, el proceso de oxidación electroquímica de la TDA se encuentra controlado por difusión.

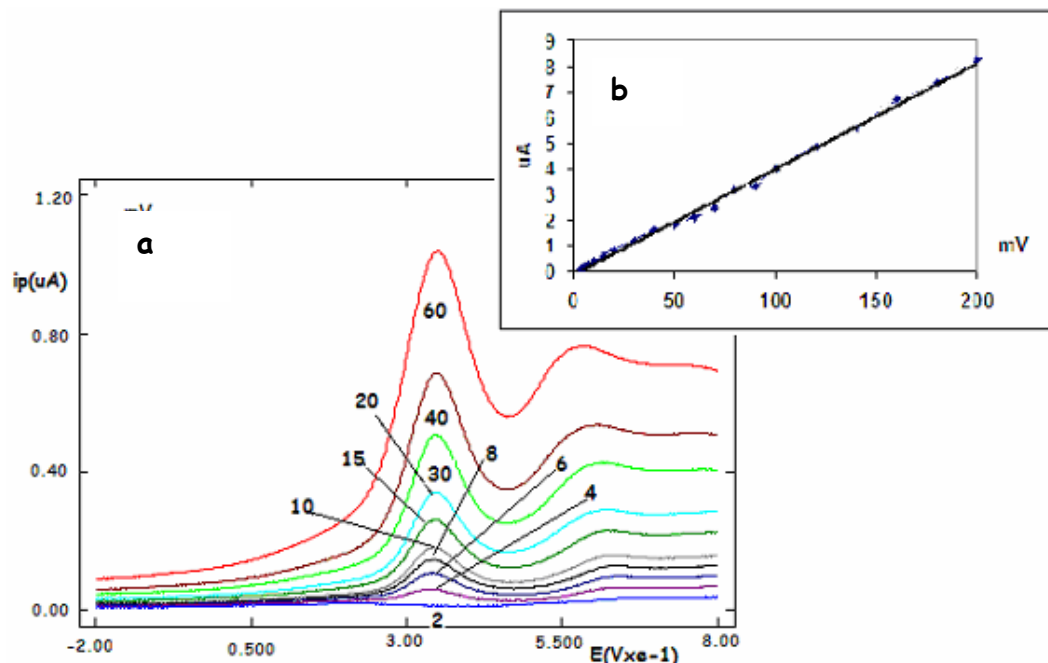
**Tabla LXIV**

<b>onda anódica</b>			<b>onda catódica</b>			<b>mV<sub>1</sub>-mV<sub>2</sub></b>
<b>mV/s</b>	<b>uA</b>	<b>mV</b>	<b>mV/s</b>	<b>uA</b>	<b>mV</b>	
<b>10</b>	2,4	410,7	<b>10</b>	3,6	385	<b>25,7</b>
<b>20</b>	2,5	411	<b>20</b>	3,1	373	<b>38</b>
<b>50</b>	3,3	410	<b>50</b>	4,3	377	<b>33</b>
<b>100</b>	3,8	407	<b>100</b>	5,8	389	<b>18</b>
<b>200</b>	4,5	406	<b>200</b>	6,7	365	<b>41</b>
<b>300</b>	5,4	409	<b>300</b>	7,9	365	<b>44</b>
<b>400</b>	6,6	406	<b>400</b>	8,4	381	<b>25</b>
<b>500</b>	7,2	404	<b>500</b>	9,2	349	<b>55</b>

El comportamiento observado en este estudio confirma el posible mecanismo de oxidación en la primera etapa, en la que tiene lugar la formación del complejo quinónico, que permanece retenido en la superficie del electrodo dado que la onda catódica presenta una morfología típica de adsorción.

## 8.- Influencia de la amplitud de impulsos

Se va a seguir el mismo procedimiento que en todos los estudios anteriores.



**Figura 112**  
**Influencia de la amplitud de impulsos**

**Condiciones:** pH=3; concentración de  $C_{18} = 10^{-6} M$ ; tiempo de modificación = 10 min; tiempo de acumulación = 10 s; potencial de acumulación = 0 mV; temperatura = 5 °C ; step=2 mV; frecuencia=200 Hz

Los voltagramas para las distintas amplitudes de impulsos, comprendidas entre 2 y 60 mV se encuentran recogidos en la figura 112 a. Como se puede observar en la figura 106 b, la intensidad de pico aumenta linealmente según la ecuación:

$$I_p(\mu A) = 0.041 \Delta E (mV) - 0.12$$

mientras que el potencial de pico apenas sufre variación, como puede verse tanto en la figura superior como en la tabla LXV.

Es necesario alcanzar una situación de compromiso entre sensibilidad, proporcionada por la mayor intensidad de pico, y selectividad, menor anchura de semipico, consiguiéndose a un valor de amplitud de impulsos de 40 mV.

En la figura 112 no aparecen recogidos los voltagramas correspondientes a amplitudes de impulsos inferiores a 60 mV porque a amplitudes de impulsos superiores los picos obtenidos se hallaban muy poco definidos.

**Tabla LXV**

<b>Amplitud(mV)</b>	<b>Ip(uA)</b>	<b>Ep(mV)</b>
<b>2</b>	0,1	222
<b>4</b>	0,4	340
<b>6</b>	0,7	344
<b>8</b>	0,9	346
<b>10</b>	1,1	344
<b>15</b>	1,6	342
<b>20</b>	2.0	346
<b>30</b>	2,9	344
<b>40</b>	3,9	346
<b>50</b>	4,8	348
<b>60</b>	5,6	348
<b>70</b>	5,6	354
<b>80</b>	5,1	356
<b>90</b>	4,3	368
<b>100</b>	3,6	372
<b>120</b>	8,4	392

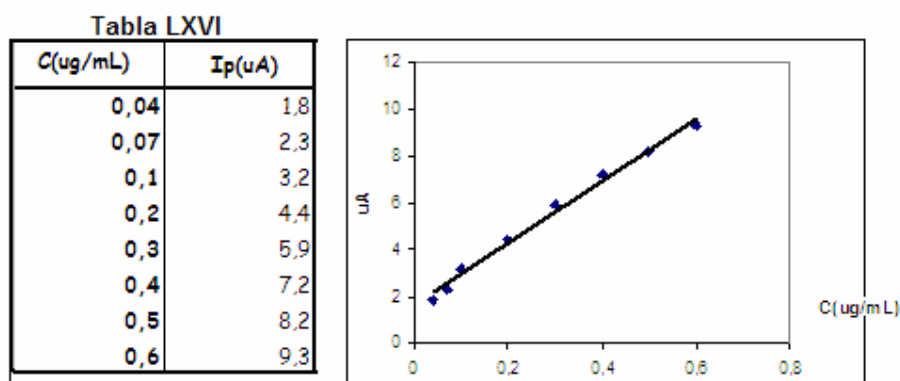
Nuevamente, al incrementar la amplitud del impulso (para valores superiores a 20mV) aparece la segunda onda, confirmando que la oxidación global se da en dos etapas.

## 9.- Influencia de la concentración

Las condiciones óptimas para cada una de las distintas variables estudiadas se resumen a continuación:

**Condiciones:** pH =3; fuerza iónica =0.5M; temperatura =5° C; concentración de modificante = $10^{-6}$ M; tiempo de modificación = 10min; tiempo de acumulación =120s; potencial de acumulación =0mV; potencial inicial = 0mV; potencial final =800mV; step =2mV; amplitud de impulsos =40 mV; frecuencia =80Hz

Establecidas dichas condiciones se realiza el estudio de la variación de la concentración de TDA en la intensidad de pico, obteniéndose la representación correspondiente a la figura 113, y cuyos datos se encuentran en la tabla LXVI.



**Figura 113**  
**Variación de la intensidad de pico**  
**respecto a la concentración de TDA**

Como puede verse en la gráfica (Fig. 113), la variación de la intensidad de pico frente a la concentración de 4,'4-diaminodifenil sulfuro tiene un comportamiento lineal en el intervalo comprendido entre 0.04 y 0.6  $\mu\text{g/mL}$ , ajustándose a la recta cuya ecuación es:

$$I_p(\mu\text{A})=13.33C(\mu\text{g/mL})+1.61$$

$$R^2=0.997$$

El error relativo es 0.025% y la precisión de 1.98% (desviación estándar relativa), calculados para una concentración de 0.4  $\mu\text{g/mL}$  y 10 medidas.

Los límites de detección y determinación son 0.044 y 0.23 $\mu\text{g/mL}$ ; viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.



## Estudios con el electrodo modificado con C8

### 1.- Influencia de la concentración de modificador.

Esta tercera parte del estudio electroquímico de la 4,4'-tiodianilina comienza con la elección de la concentración de modificador más adecuada. En este caso el modificador es n-octanotiol ( $C_8$ ), el cual se encuentra formado por una cadena lineal, siendo el grupo final un tiol, a través del cual se adsorbe en la superficie del electrodo y se forman los canales de acceso restringido, controlándose de esta manera la oxidación electroquímica de la TDA.

Las concentraciones de  $C_8$  empleadas en este estudio se encuentran comprendidas entre  $10^{-6}$  y  $10^{-3}$  M.

Como puede verse en las figuras 114 a y 114 b, es a una concentración de modificador de  $10^{-4}$  M cuando se obtiene el pico más intenso, es decir, que a esta concentración de modificador se forman los canales de acceso restringido a la superficie del electrodo del tamaño adecuado para la oxidación de la molécula objeto de estudio. Es este caso, y posiblemente debido a la longitud, las cadenas de n-octanotiol se encuentren formando un enrejado, como han indicado diversos autores en estudios anteriores.

La formación de un enrejado por parte del modificador dificulta el acceso de la especie electroactiva a la superficie del electrodo, lo que se manifiesta en un incremento del potencial de acumulación y un ensanchamiento de la onda de oxidación obtenida.

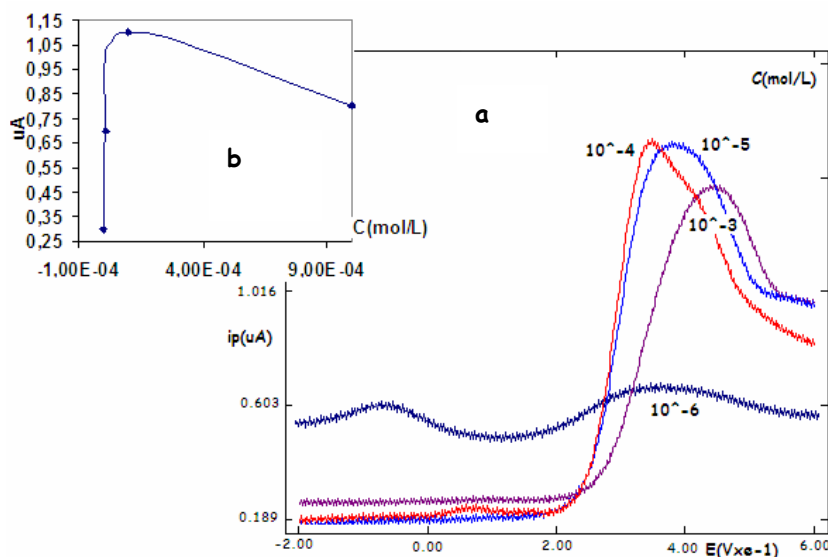


Figura 113

#### Influencia de la concentración de modificador frente a la intensidad

**Condiciones:** pH=3; tiempo de modificación =5min; tiempo de acumulación=10s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5°C; step=2mV; amplitud de impulsos=50mV; frecuencia=200Hz

## 2.-Influencia del tiempo de modificación

A continuación se va a tratar de determinar el periodo de tiempo que tienen que estar en contacto el electrodo de oro y la disolución modificadora, para tener la total seguridad de que se han formado los canales de acceso restringido a la superficie del electrodo.

Como puede observarse tanto en las figuras 115 a y 115 b, como en la tabla LXVII, el tiempo de modificación más adecuado se alcanza a los cinco minutos y además el potencial se mantiene prácticamente constante.

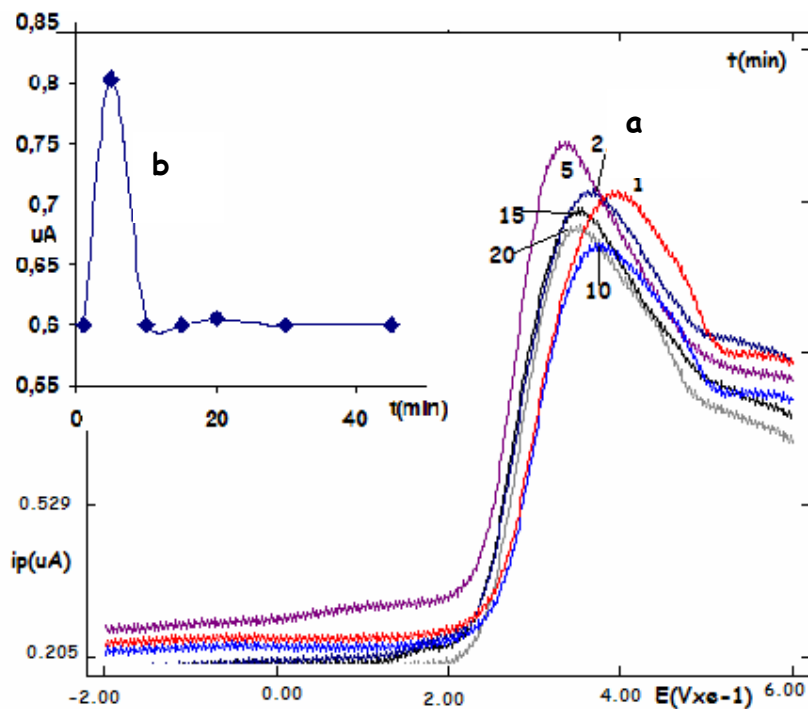


Figura 115

Influencia del tiempo de modificación frente a la intensidad

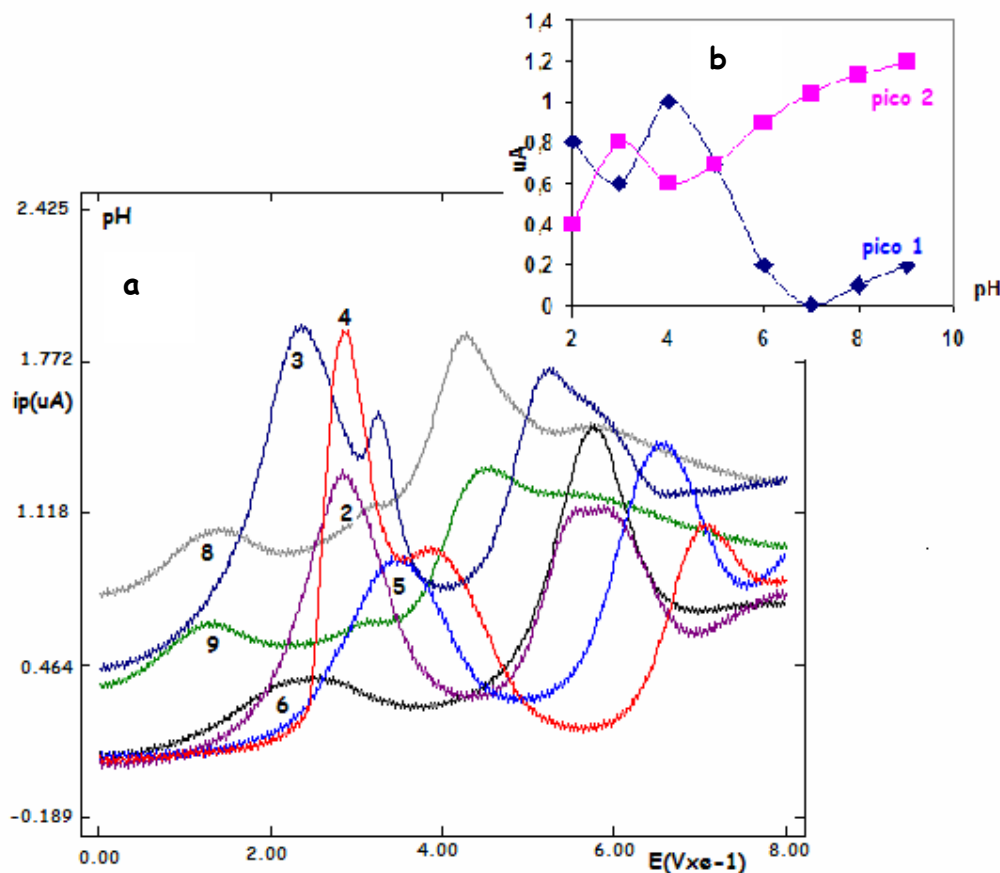
**Condiciones:** concentración de modificador=  $10^{-4}$  pH=3; tiempo de acumulación=10s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5°C; step=2mV; amplitud de impulsos=50mV; frecuencia=200Hz

Tabla LXVII

t(min)	$i_p$ (uA)	$E_p$ (mV)
1	0,6	345
5	0,803	355
10	0,6	336
15	0,6	339
20	0,606	344
30	0,6	358
45	0,6	339

### 3.- Influencia del pH

Del mismo modo que en todos los estudios anteriores el rango de pH a estudiar se encuentra comprendido entre pH 2 y pH 11.



**Figura 116**  
**Influencia del pH frente a la intensidad**

**Condiciones:** concentración de modificador= $10^{-4}$ ; tiempo de modificación =5min; tiempo de acumulación=10s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 °; step=2mV; amplitud de impulsos=50mV; frecuencia=200Hz

Como puede observarse en los voltagramas registrados en la figura 116 a, el pH más adecuado es cuatro, ya que es al que se ha obtenido el pico más intenso y mejor definido. También puede comprobarse que a medida que el pH es más básico disminuye el tamaño de la onda que corresponde al potencial de la TDA y aparece otra onda cuya intensidad aumenta al variar el pH a valores alcalinos. Los datos correspondientes a estos voltagramas se encuentran en la tabla LXXVIII.

En la figura 116 b, vemos como evolucionan la intensidad y el potencial de pico con el pH para ambas ondas. Y si se realiza la representación gráfica de la variación del

potencial de pico con respecto al pH (figura 117), se observa que el potencial de pico se ajusta a la ecuación:

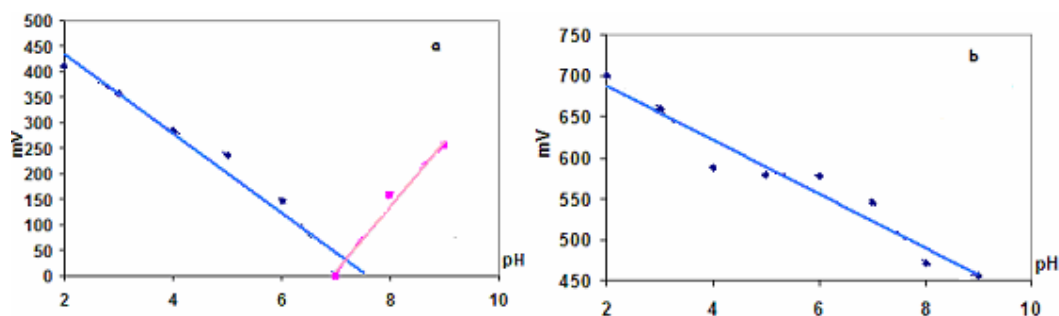
- Para el pico 1 (fig. 117.a) se observa que la pendiente sufre un cambio de signo, siendo las ecuaciones correspondientes:

$$\text{pH 2 a pH 7: } i_p(\mu\text{A}) = -72.14\text{pH} + 590.81$$

$$\text{pH 7 a pH9: } i_p(\mu\text{A}) = 127.50\text{pH} - 883$$

- Para el pico 2 (fig. 117.b) no se observa ningún cambio de signo en la pendiente, de manera que solo se obtiene una ecuación:

$$i_p(\mu\text{A}) = -33.08\text{pH} + 754.33$$



**Figura 117**

**a)** Potencial de pico frente a pH para pico 1 **b)** Potencial de pico frente a pH para pico 2

**Tabla LXXVIII**

	pico 1			pico 2	
pH	$i_p(\mu\text{A})$	$E_p(\text{mV})$	pH	$i_p(\mu\text{A})$	$E_p(\text{mV})$
2	0,8	412	2	0,4	700
3	0,6	356	3	0,8	660
4	1.0	284	4	0,6	588
5	0,7	236	5	0,7	580
6	0,2	147	6	0,9	578
7	0	0	7	1,043	545
8	0,1	156	8	1,13	472
9	0,2	255	9	1,20	456

Este comportamiento parece indicar que a pH 4 se produce una menor interacción entre el modificador y la TDA, mientras que a pH alcalinos se produce, directamente en la superficie electrónica y a través del modificador, un doble mecanismo de transferencia de electrones para las moléculas retenidas en el enrejado formado por el modificador.

#### 4.- Influencia del tiempo de acumulación

Se ha estudiado la influencia del tiempo de acumulación a un potencial de 0mV con el fin de comprobar si se produce una variación significativa de la intensidad de corriente, hecho que pueda aportar información acerca del mecanismo de oxidación de la especie electroactiva, conducente a una posible mejora en la sensibilidad del método.

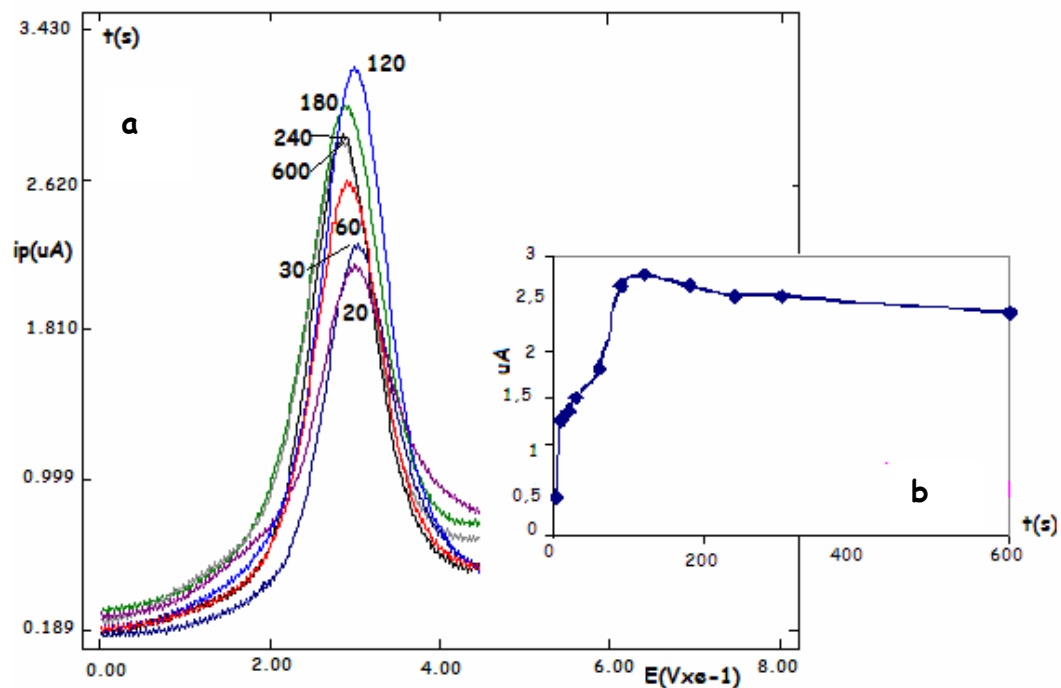


Figura 118

#### Influencia del pH frente a la intensidad

**Condiciones:** concentración de modificador= $10^{-4}$ ; tiempo de modificación =5min; pH=4; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 °C, step=2mV; amplitud de impulsos=50mV; frecuencia=200Hz

Tabla LXIX

t(s)	Ip(μA)	Ep(mV)
5	0,41	306
10	1,24	292
20	1,34	300
30	1,50	300
60	1,80	304
90	2,70	294
120	2,81	290
180	2,70	286
240	2,57	286
300	2,57	286
600	2,40	292

Como se puede comprobar tanto en la figura 118 b, como en la tabla LXIX, a un tiempo de acumulación de 120 segundos es al que se obtiene el pico mejor definido, por lo que se considerará como el más adecuado. Además es a partir de este tiempo de acumulación cuando se obtienen valores de intensidad de pico constantes, lo cual es indicativo de la saturación del electrodo.

En cuando al potencial de pico, se puede ver en la figura 118 a que apenas sufre variación.

Estos resultados ponen de manifiesto que el mecanismo de aporte de especie electroactiva al electrodo no sufre modificación, pues no hay un gran incremento en la intensidad de pico. El incremento de la intensidad de pico y la forma con que varía en función del tiempo parece indicar que el proceso electródico global se produce por adosorción.

## Variables instrumentales

### 5.- Influencia de la frecuencia

En este estudio se analiza la influencia de la variación de la frecuencia en la reacción electroquímica.

En la figura 119 se encuentran recogidos los voltagramas para los distintos valores de frecuencia.

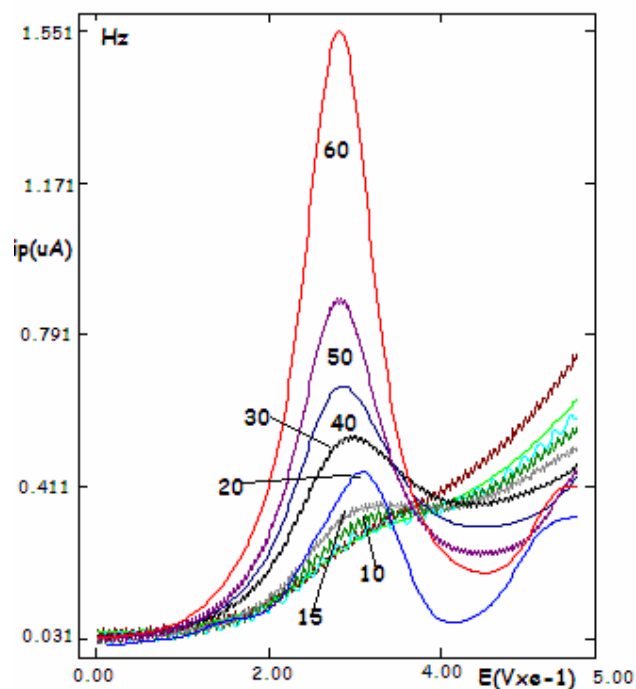


Figura 119

#### Influencia de la frecuencia frente a la intensidad

**Condiciones:** concentración de modificador= $10^{-4}$ ; tiempo de modificación =5min; pH=4; tiempo de acumulación=120s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 °C; step=2mV; amplitud de impulsos=50mV

Como puede apreciarse, a 60 Hz se obtiene el pico mejor definido, es decir aquel con menor anchura de semionda.

En la siguiente representación gráfica, figura 120, y tabla LXX aparecen recogidos los datos correspondientes al estudio de la influencia de la frecuencia,

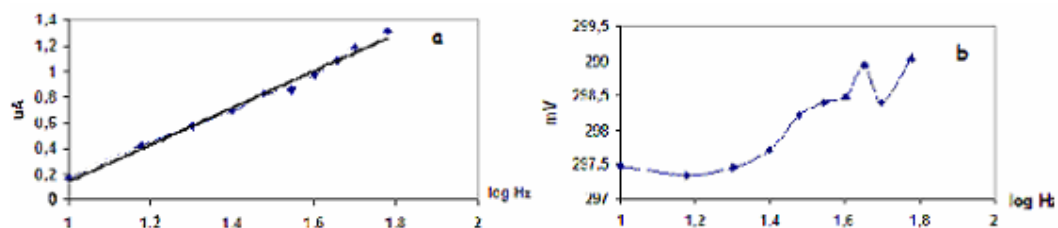


Figura 120

**Variación de la intensidad y el potencial de pico frente a la frecuencia**

a) Intensidad de pico frente a frecuencia      b) Potencial de pico frente a frecuencia

Tabla LXX

Hz	$i_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
10	0,17	297,48
15	0,42	297,34
20	0,58	297,45
25	0,69	297,70
30	0,83	298,21
35	0,86	298,40
40	0,97	298,47
45	1,080	298,93
50	1,19	298,40
60	1,31	299,03

Puede verse que la variación de la frecuencia frente a la intensidad de pico sigue una tendencia lineal que se ajusta a la ecuación

$$i_p(\mu A) = 1.44 \log f(Hz) - 1.29$$

Dado que la variación de la intensidad de pico es logarítmica, se puede confirmar que el proceso de oxidación se encuentra controlado por difusión.



## 6.- Influencia del step (escalón de potencial aplicado)

Al igual que en los estudios anteriores, el step se modificará dentro de un rango comprendido entre 1mV y 10mV, este rango corresponde a unas velocidades de barrido entre 80mV/s y 800mV/s. Los valores de intensidad mínimo y máximo obtenidos son 0.13μA y 0.48 μA respectivamente, aumentando la anchura de semipico al aumentar el step.

En la figura 121 se encuentran recogidos los voltagramas correspondientes a la variación del step. Como puede verse en el primer pico el potencial se mantiene prácticamente constante, variando considerablemente en el segundo pico observado..

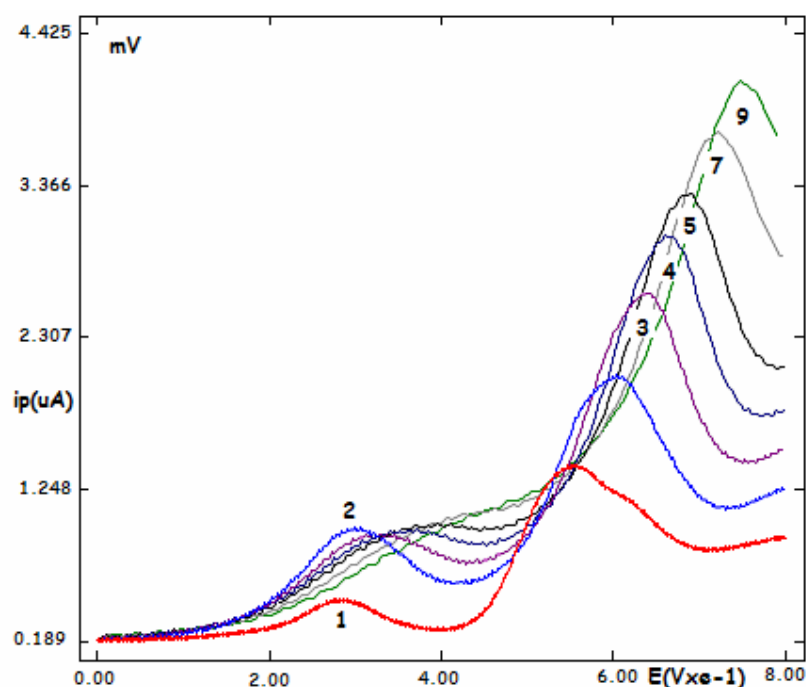


Figura 121

### Influencia del step frente a la intensidad

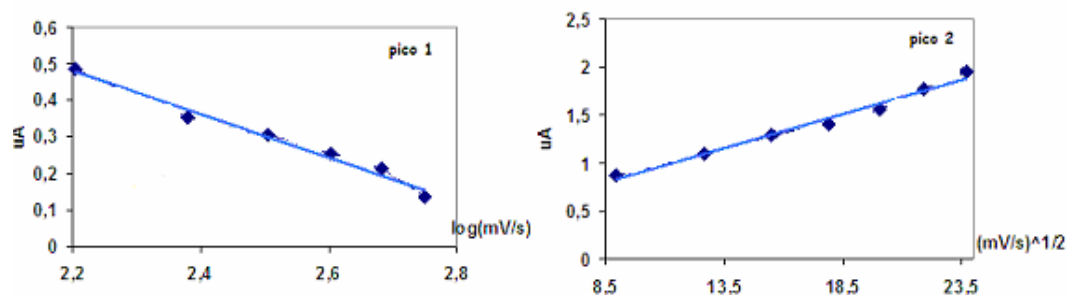
**Condiciones:** concentración de modificador= $10^{-4}$ ; tiempo de modificación =5min; pH=4; tiempo de acumulación=120s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 °C; amplitud de impulsos=50mV; frecuencia=200Hz

En la tabla LXXI y en la representación gráfica de la variación de la intensidad de pico frente a la velocidad de barrido (figura 122) de los dos picos que aparecen puede verse que el pico 1 se ajusta linealmente al logaritmo teniendo la ecuación pendiente negativa, mientras que el pico 2 sigue una tendencia lineal que se ajusta a la raíz cuadrada del step. Las ecuaciones para ambos casos son:

$$\text{pico 1: } ip (\mu A) = -0.59 \log v (mV/s) + 1.79$$

$$\text{pico 2: } ip (\mu A) = 0.072 v^{1/2} (mV/s) + 0.19$$

De las ecuaciones anteriores se deduce que el sistema, al igual que se dedujo en el estudio de la frecuencia, se encuentra controlado por adsorción.



**Figura 122**

**Variación de la intensidad de pico frente al step**

- a) Intensidad de pico frente a step para pico 1      b) Intensidad de pico frente a step para pico 2

**Tabla LXXI**

	pico 1				pico 2		
mV	mV/s	$I_p(\mu A)$	$E_p(mV)$	mV	mV/s	$I_p(\mu A)$	$E_p(mV)$
1	80	0,2231	283	1	80	0,871	555
2	160	0,4858	300	2	160	1,1034	604
3	240	0,354	321	3	240	1,29	633
4	320	0,305	372	4	320	1	660
5	400	0,255	380	5	400	2	690
6	480	0,212	382	6	480	1,782	702
7	560	0,1371	355	7	560	1,95	721

La aparición del segundo pico confirma la existencia de una segunda oxidación de la molécula a partir, del producto de la oxidación retenido en la superficie del electrodo

## 7.-Velocidad de barrido en voltametría cíclica

Al igual que en casos anteriores, este estudio se lleva a cabo con el fin de conocer la evolución del proceso de oxidación electroquímica de la molécula de interés.

En la siguiente figura (fig. 123) y tabla LXXII, aparecen recogidos tanto los voltagramas en voltametría cíclica, como la representación gráfica de la variación de la intensidad de pico con respecto a la velocidad de barrido y los datos obtenidos en el presente estudio.

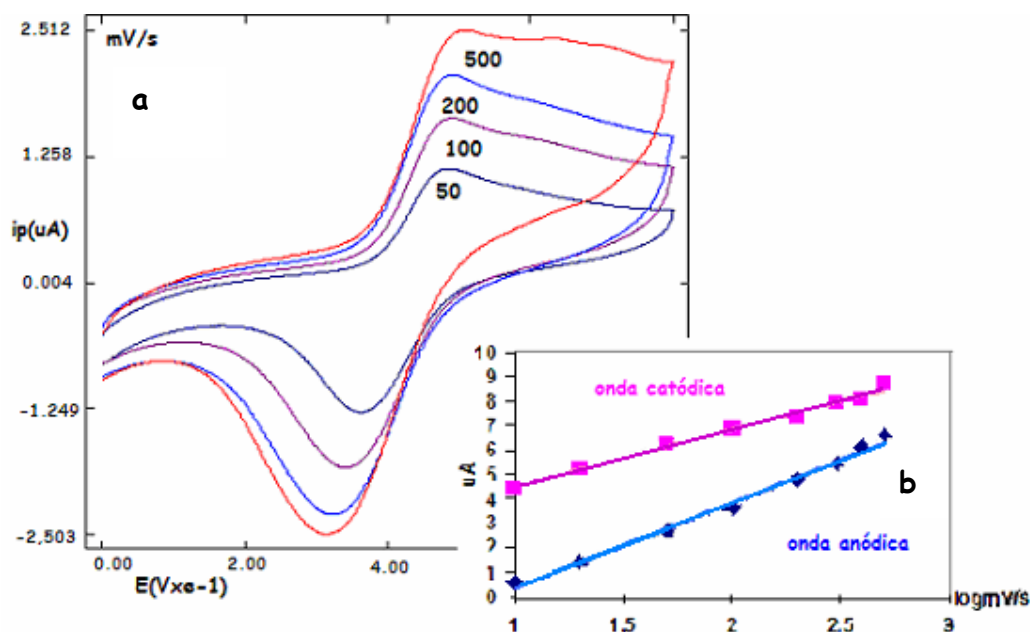


Figura 123

### Influencia de la velocidad de barrido

**Condiciones:** pH=3; concentración de TDA= 10ug/mL; temperatura =5 °C; potencial inicial=0mV; potencial final=0mv; switching potencial=800mV

Tabla LXXII

onda anódica			onda catódica			mV <sub>1</sub> -mV <sub>2</sub>
mV/s	Ip(uA)	Ep(mV9	mV/s	Ip(uA)	Ep(mV)	
10	0,53	425	10	4,50	392	33
20	1,40	446	20	5,20	387	59
50	2,66	450	50	6,30	389	61
100	3,60	455	100	6,90	394	61
200	4,80	468	200	7,40	399	69
300	5,40	469	300	7,90	401	68
400	6,12	471	400	8,10	399	72
500	6,54	478	500	8,72	386	92

Como se puede observar en la representación gráfica de la variación de la intensidad de pico con respecto a la velocidad de barrido (figura 123 b), se sigue una tendencia lineal que se ajusta al logaritmo tanto para la onda anódica como para la catódica, siendo sus ecuaciones:

$$\text{onda anódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0.24 \log(\text{mV/s}) + 1.42$$

$$\text{onda catódica: } i_p(\mu\text{A}) = 0.031 \log(\text{mV/s}) + 2.25$$

En la tabla LXXII, puede comprobarse que la diferencia de potencial entre las dos ondas es inferior a 0.03V para velocidades de barrido bajas, aumentando esta diferencia al incrementarse la velocidad de barrido.

Estos datos indican que a velocidades de barrido bajas el proceso de oxidación electroquímica de la TDA es reversible controlado por adsorción. Mientras que a velocidades de barrido superiores la oxidación es irreversible controlada también por adsorción.

## 8.-Influencia de la amplitud de impulsos

En la figura 124 se encuentran recogidos los voltagramas en onda cuadrada correspondientes a la variación de la amplitud de impulsos. Como puede observarse el potencial apenas sufre variación, mientras que aumenta la anchura de semipico y se obtiene la señal mejor definida para un valor de amplitud de impulsos de 10mV.

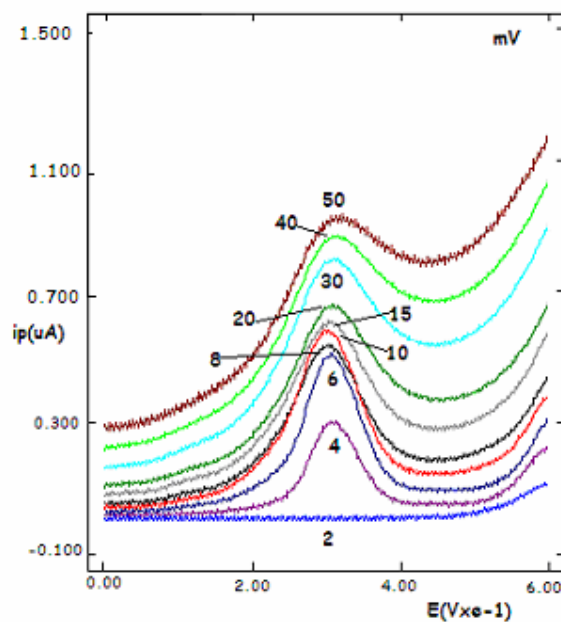


Figura 124

### Influencia de la amplitud de impulsos frente a la intensidad

**Condiciones:** concentración de modificador= $10^{-4}$ ; tiempo de modificación =5min; pH=4; tiempo de acumulación=120s; potencial de acumulación =0mV; temperatura =5 °C; step=2mV; frecuencia=200Hz

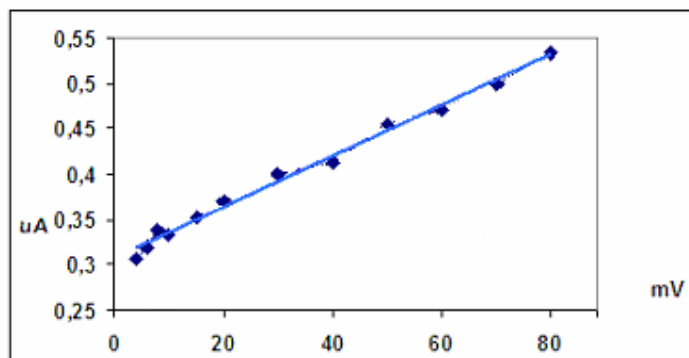
En la tabla LXXIII aparecen recogidos los datos correspondientes a intensidad y potencial.

Tabla LXXIII

Amplitud(mV)	Ip(μA)	Ep(mV)
4	0,31	313,28
6	0,32	3130
8	0,34	313,20
10	0,33	313
15	0,35	313,05
20	0,37	313,55
30	0,40	314
40	0,41	314,10
50	0,45	314,36
60	0,47	314,53
70	0,49	314,50
80	0,53	315,03

Al realizar la representación gráfica de la intensidad frente a la amplitud de impulsos (figura 125), se comprueba que tiene una tendencia lineal según la ecuación:

$$ip(\mu A)= 0.0028\Delta E(mV)+0.31$$



**Figura 125**  
Variación de la intensidad de pico frente a la amplitud de impulsos

## 9.- Influencia de la concentración

Una vez estudiadas todas las variables, se eligieron las condiciones más adecuadas para la determinación de la 4,4'-diaminodifenil sulfuro, que son:

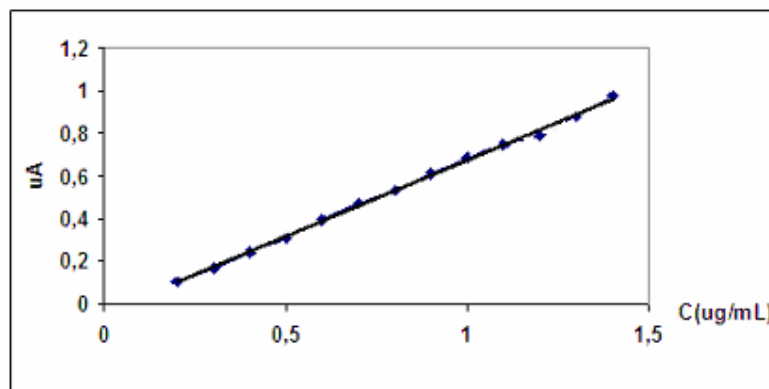
**Condiciones: concentración de modificad  $r=10^{-4}$  M; tiempo de modificación =5min; pH =4; tiempo de acumulación =120s; Potencial de acumulación =0mV, temperatura =5° C, Potencial inicial =0mV, Potencial final =800mV; step =2mV; amplitud de impulsos =10mV; frecuencia =60Hz**

Seguidamente se procedió al estudio de la influencia de la variación de la concentración de TDA, con el fin de realizar la correspondiente recta de calibrado. Los datos aparecen recogidos en la tabla LXXIV.

Tabla LXXIV

C(μg/mL)	Ip(uA)	Ep(mV)
0,2	0,10	244
0,3	0,17	242
0,4	0,24	240
0,5	0,30	238
0,6	0,39	236
0,7	0,47	237
0,8	0,53	238
0,9	0,61	240
1,0	0,69	238
1,1	0,75	238
1,2	0,79	234
1,3	0,88	235
1,4	0,98	240
1,5	0,068	238
2,0	0,014	246
2,5	0,26	238
3,0	0,25	238
3,5	0,26	235
4,0	0,26	240
4,5	0,23	243
5,0	0,18	245

Al representar gráficamente la intensidad de pico frente a la concentración se obtiene la siguiente recta, figura 126.



**Figura 126**  
**Variación de la intensidad de pico frente a la concentración de TDA**

Para el intervalo de concentraciones comprendido entre 0.2 y 1.4  $\mu\text{g/mL}$  la recta de calibrado se ajusta linealmente a la ecuación:

$$ip(\mu\text{A})=0.72C(\mu\text{g/mL})-0.045$$

$$R^2=0.998$$

Para intervalos de concentración superiores se pierde la linealidad y además la intensidad de pico disminuye posiblemente debido a la saturación del electrodo.

Los valores obtenidos tienen una exactitud de 0.042% (error relativo) y una precisión de 3.96% (desviación estándar relativa), calculados para una concentración de 0.6  $\mu\text{g/mL}$  y 10 medidas

Los límites de detección y determinación son 0.073 y 0.34  $\mu\text{g/mL}$ , viniendo definidos como tres y diez veces la desviación estándar respectivamente.



**APLICACIÓN**



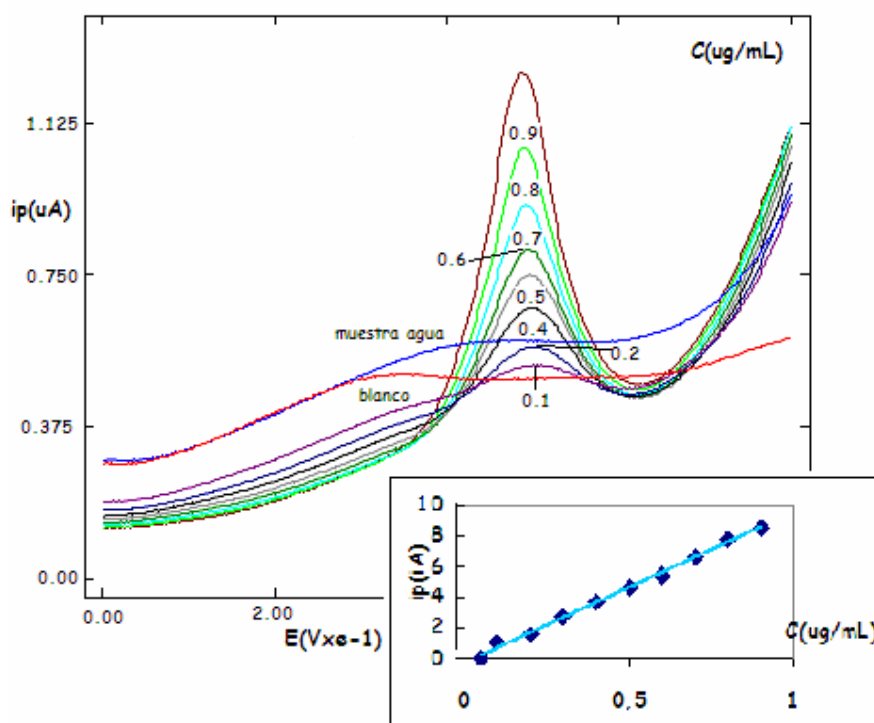
Los estudios realizados antes se han aplicado en la determinación de 4,4'-tiodianilina en un agua residual procedente de una industria textil.

Los estudios que se han llevado a cabo han sido la realización de medidas directas con el electrodo de oro, así como modificándolo con C8 y con C18, no habiéndose obtenido señal en ninguno de los tres casos.

El proceso que se siguió en el tratamiento de la muestra se encuentra descrito al principio de esta tesis.

La figura 127 representa el estudio por adición estándar para la TDA cuando el electrodo se encuentra modificado con C18, siendo las condiciones de medida:

**Condiciones: pH =3; fuerza iónica =0.5M; temperatura =5° C; concentración de modificante =10<sup>-6</sup>M; tiempo de modificación = 10min; tiempo de acumulación =120s; potencial de acumulación =0mV; potencial inicial = 0mV; potencial final =800mV; step =2mV; amplitud de impulsos =40 mV; frecuencia =80Hz**



**Figura 127**  
**Adición estándar para el agua residual**

Siguiendo una tendencia lineal que se ajusta a la ecuación:

$$i_p(\mu A) = 9,7824C(\mu g/mL) - 0,226$$

**R<sup>2</sup> = 0,9961**

Como puede observarse en la figura, no se ha obtenido señal de 4,4'-tiodianilina.

## **VALIDACIÓN DE LOS RESULTADOS POR HPLC**



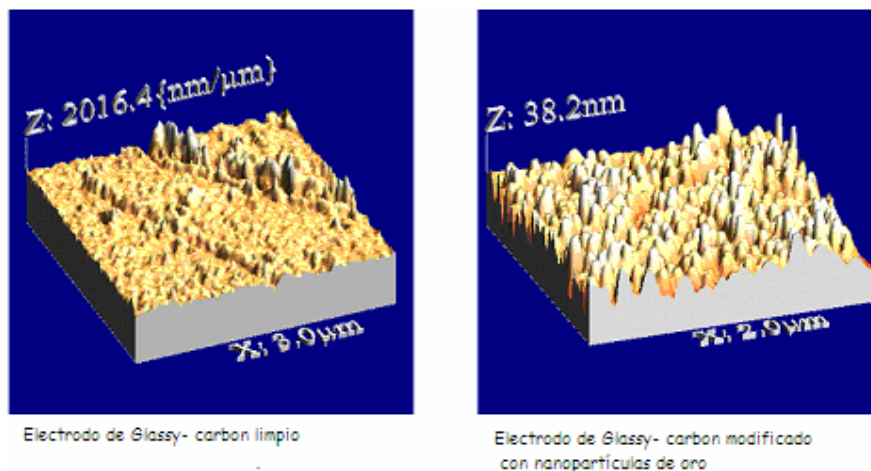
Con objeto de completar y comparar los procedimientos desarrollados para la medida directa de los compuestos estudiados en un electrodo de oro, modificado y sin modificar, se realiza un estudio mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), empleándose dos detectores: electroquímico y ultravioleta- visible.

Como detector electroquímico se utilizó un electrodo de Glassy-Carbon modificado con nanopartículas de oro. Las cuales se obtienen con mucha facilidad a través de la reducción electroquímica del complejo  $\text{Cl}_4\text{Au}^-$  sobre un electrodo de pasta de carbón.

Se ha propuesto esta modificación de un electrodo porque la superficie de un electrodo convencional de oro o de pasta de carbón debe ser regenerada físicamente después de sucesivas medidas, lo que conlleva necesariamente a realizar una recalibración de la superficie del electrodo.

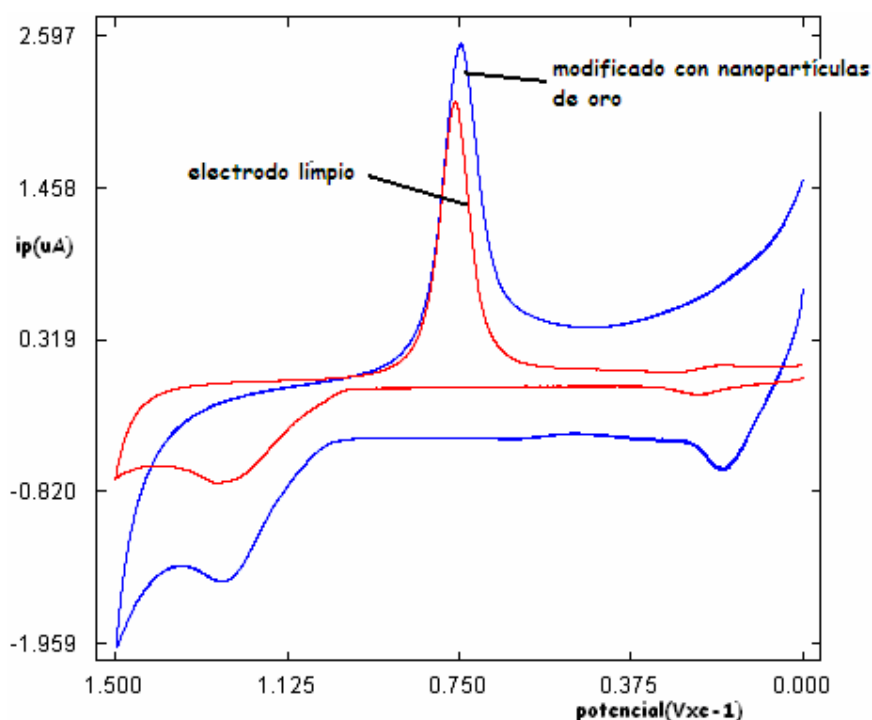
Si la electrolisis de la disolución de  $\text{Cl}_4\text{Au}^-$  es llevada a cabo sobre un electrodo de Glassy- carbon bajo un potencial constante y durante un tiempo fijado, la cantidad de oro depositado, de acuerdo con la ley de Faraday ( $M=Q/F$ ), es siempre la misma, y si se mantienen las mismas condiciones, el tamaño de las nanopartículas es siempre similar

La figura 128 muestra una imagen del electrodo de Glassy carbon sin modificar y modificado con nanopartículas de oro, mediante AFM.



**Figura 128**  
**Imagen de los electrodos por AFM**

El barrido de potencial realizado para comparar la señal de los dos electrodos (figura 129), indica que el electrodo de Glassy- carbon modificado con nanopartículas de oro proporciona una señal mayor que en el caso del electrodo de oro, del mismo diámetro que el Glassy-carbon sin nanopartículas, comercial empleado en los estudios del comportamiento electroquímico de las tres moléculas estudiadas en esta tesis.



**Figura 129**  
**Comparación de electrodos de oro y de Glassy- carbon modificado con nanopartículas de oro**

Para el estudio cromatográfico de 4,4'-diaminodifenil amina (DADPA); 4,4'-oxidianilina (ODA) y 4,4'-tiodianilina (TDA) se ha empleado una fase móvil compuesta por acetonitrilo y fosfato 5mM. Habiéndose estudiado las proporciones de disolventes empleados como fase móvil más adecuadas en la determinación de cada una de las moléculas estudiadas.

Así para ODA y TDA, la bibliografía disponible indica que la proporción de disolventes es acetonitrilo/ 5mM fosfato (30/70 (v/v)) a pH 5. Mientras que en el caso de la DADPA, ante la ausencia de datos bibliográficos, fue necesaria la realización de un estudio para determinar cuál era la proporción de disolventes y como el pH óptimos, llegándose a la conclusión de que la fase móvil más adecuada es acetonitrilo/5mM fosfato (20/80 (v/v)) a pH 11.

Estas fases móviles se emplearon en la determinación por cromatografía líquida de alta resolución con detector ultravioleta y electroquímico.

Establecidas las condiciones cromatográficas se realizó una recta de calibrado con el compuesto puro, para a continuación inyectar una alícuota de 20µL de muestra, y por interpolación, calcular la concentración de DADPA, ODA y TDA que se pudieran hallar presentes en la muestras reales estudiadas.

Las muestras estudiadas, agua residual procedente de una industria textil, tinte comercial para calzado y para cabello, fueron tratadas y estabilizadas previamente a través



del procedimiento que aparece reflejado en el apartado de tratamiento de muestras de la sección de procedimientos.

A continuación se exponen los resultados encontrados para cada una de las moléculas utilizando detector ultravioleta-visible y electroquímico.



## 4,4'-diaminodifenil amina

### 1. HPLC con detector ultravioleta

Las condiciones de medida son las siguientes:

**Fase móvil:** acetonitrilo/ 5mM fosfato (20/80 (v/v)) pH 11

**Velocidad de flujo:** 1.0 mL /min

**$\lambda$ =289nm**

**Temperatura= 40°C**

**Volumen inyectado =20 $\mu$ L**

Como se puede observar en el cromatograma (figura 130), la DADPA aparece a un tiempo de retención de 4.23 minutos

Para la realización de la recta de calibrado, se empleó un intervalo de concentraciones de compuesto puro comprendido entre 0.01 y 5.0  $\mu$ g/mL; y siendo en cada medida el volumen de inyección de 20  $\mu$ L. Se obtiene una recta de calibrado de ecuación:

$$\text{Area}(\mu\text{V}.\text{Sec})=5314.95 \text{ C}(\mu\text{g/mL}) + 550.72$$

$$R^2=0.995$$

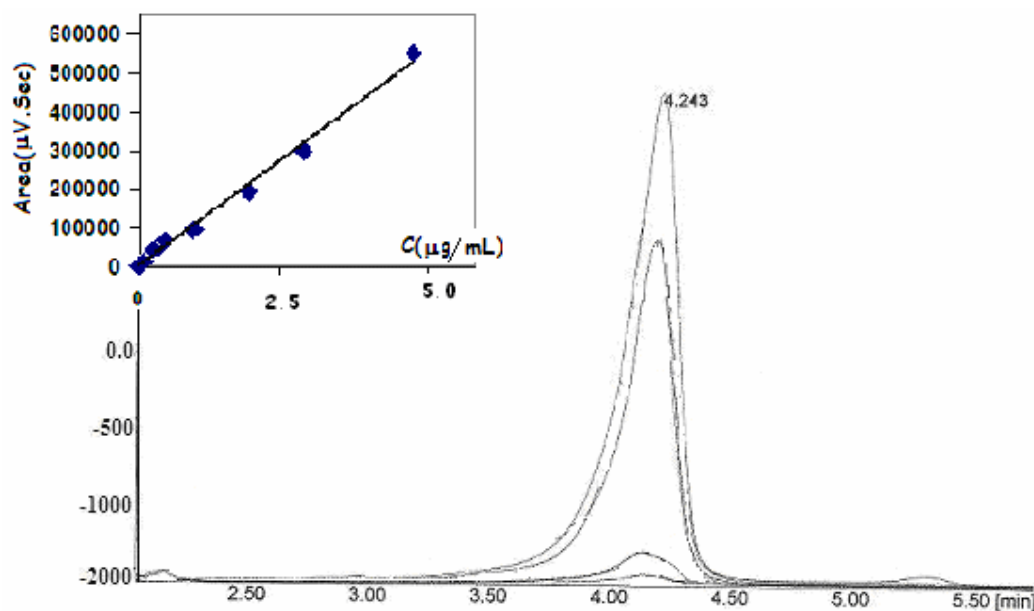
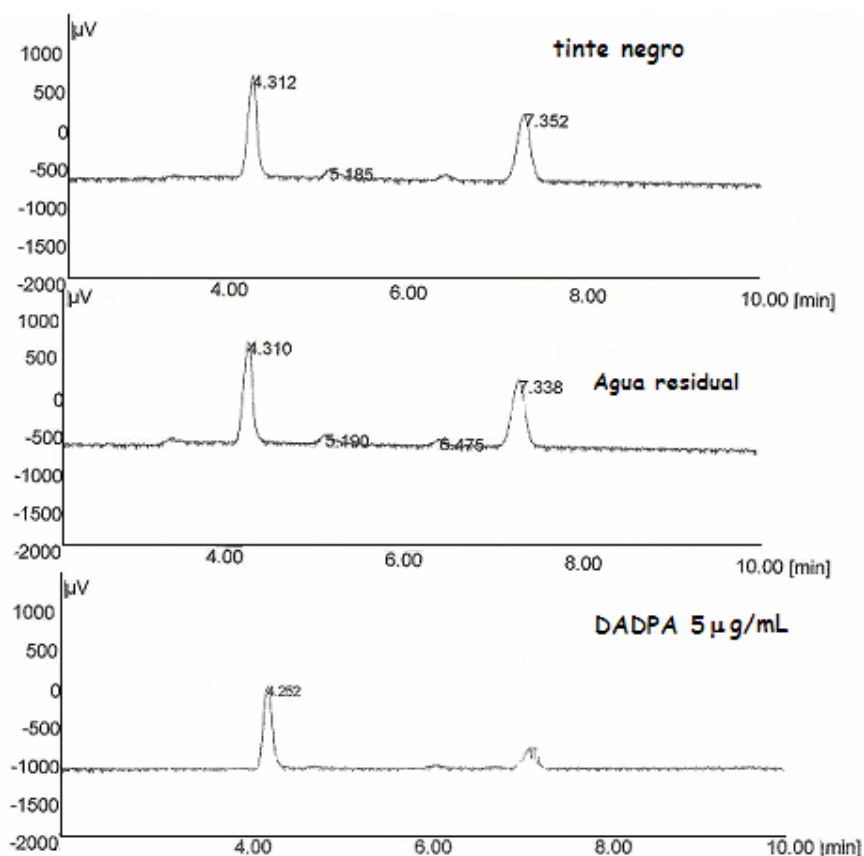


Figura 130

Recta de calibrado para DADPA con detector electroquímico

Una vez realizado el calibrado correspondiente se inyectan 20  $\mu\text{L}$  de las muestras de agua residual y de los tintes negro y rojo, obteniéndose los cromatogramas de la figura 131.



**Figura 131**

#### **Comparación del patrón de DADPA con las muestras de tinte negro y agua residual**

Al interpolar las áreas de pico obtenidas los datos obtenidos y teniendo en cuenta que se han inyectado 20  $\mu\text{L}$ , se obtiene que la concentración de 4,4'-diamindodifenil amina presente en cada una de las muestras analizadas, agua residual, tinte para cabello negro y tinte para cabello rojo, es la que aparece recogida en la tabla LXXV:

**Tabla LXXV**

	$t_r(\text{min})$	Area ( $\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$ )	C( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>Agua residual</b>	4.235	3369.79	<b>5.32</b>
<b>Tinte negro</b>	4.300	4274.02	<b>7.01</b>
<b>Tinte rojo</b>	4.251	10129.519	<b>18.01</b>

## 2. HPLC con detector electroquímico

Para los estudios con detector electroquímico se ha seguido el mismo procedimiento cromatográfico que con el detector ultravioleta siendo las condiciones de medida:

**Fase móvil: acetonitrilo/ 5mM fosfato (20/80 (v/v)) pH 11**

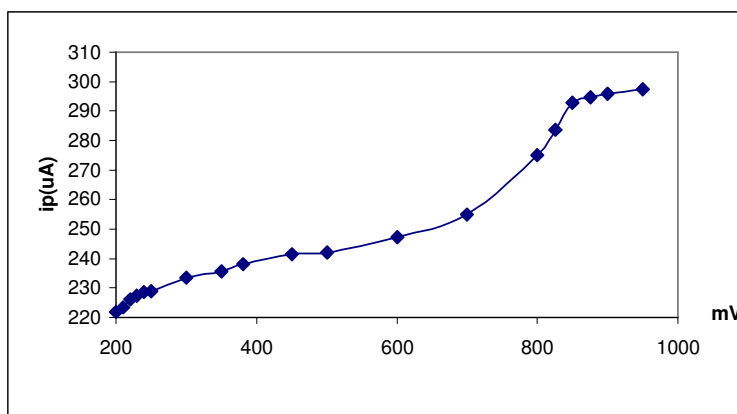
**Velocidad de flujo: 1.0 mL /min**

**Temperatura= 40°C**

**Volumen inyectado =20µL**

**Potencial= 800mV**

El potencial de medida se eligió a partir de la curva hidrodinámica obtenida en las mismas condiciones a las que se realizó el estudio cromatográfico. Los resultados se encuentran representados en la figura 132, el potencial elegido para la medida amperométrica es 800mV.



**Figura 132**  
**Curva hidrodinámica**

Los cromatogramas obtenidos se encuentran representados en la figura 133, en los que se observa que la 4,4'-diaminodifenil amina aparece a un tiempo de retención de 4.26 minutos.

Se realizó el correspondiente calibrado, utilizando un margen de concentraciones comprendido entre 0.01 y 5.00 µg/mL, y un volumen inyectado de 20 µL, obteniéndose la relación lineal expresada en la ecuación:

$$\text{Area}(\mu\text{V}.\text{Sec}) = 8090.75 \text{ C}(\mu\text{g/mL}) + 10507.25$$

$$R^2 = 0.987$$

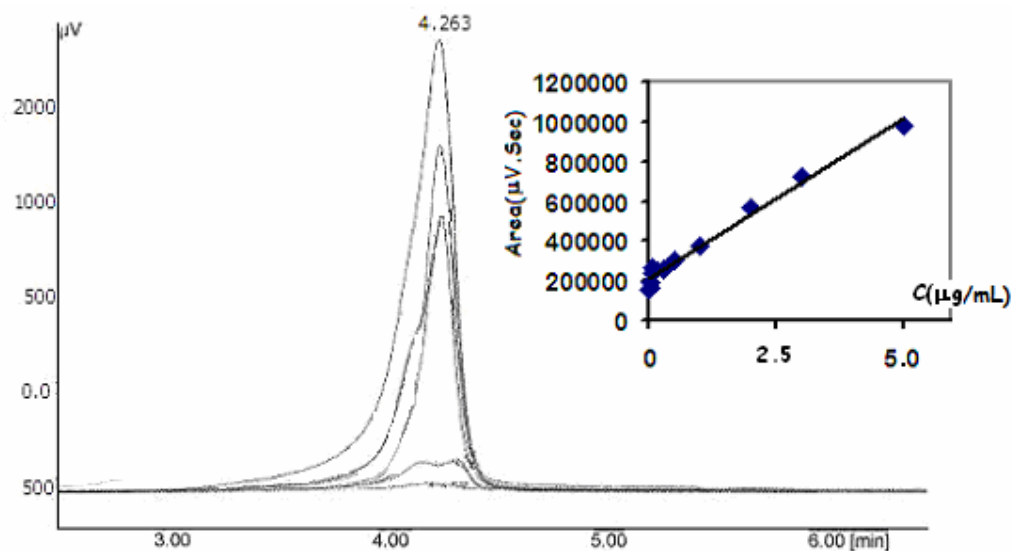


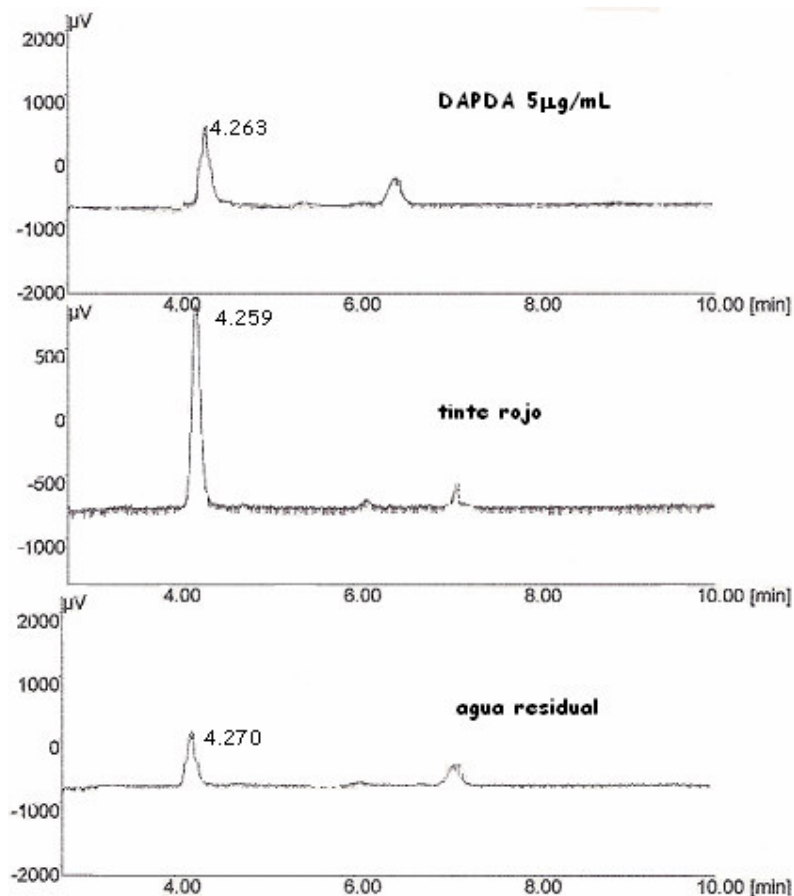
Figura 133

**Recta de calibrado para la DADPA con detector electroquímico**

Una vez realizado el calibrado, se aplica el método a la determinación de la DADPA en agua residual, tinte negro y tinte rojo, inyectándose 20  $\mu L$  de muestra. Los cromatogramas obtenidos se representan en la figura 134, y por interpolación de las áreas se obtienen los resultados obtenidos en la tabla LXXVI.

Tabla LXXVI

	$t_r$ (min)	Area ( $\mu V \cdot Sec$ )	C( $\mu g/mL$ )
<b>Agua residual</b>	4.270	245097.256	4.37
<b>Tinte negro</b>	4.331	261278,856	6.32
<b>Tinte rojo</b>	4.259	367834.692	19.49



**Figura 134**

**Comparación del patrón de DADPA con las muestras de tinte rojo y agua residual**

Los resultados encontrados al utilizar detección ultravioleta y electroquímica son comparables, estando dentro de los márgenes permitidos por la legalidad vigente en la Comunidad Europea.

La metodología electroquímica es perfectamente válida para la medida de este compuesto, pues se obtienen resultados semejantes tanto en la medida directa como en las medidas cromatográficas.





## 4,4'-oxidianilina

Para la determinación cromatográfica de la 4,4'-oxidianilina, en un agua residual procedente de una industria textil y en un tinte comercial para calzado, es necesario realizar una preparación previa de la muestra de agua mediante una limpieza y preconcentración, para separar la muestra de los compuestos interferentes.

El procedimiento seguido consistió en tomar 2mL de agua residual, que se pasan lentamente por un sep- pac C18, y se eluyen a continuación con metanol, realizando posteriormente la determinación mediante adicción estandar.

### 1. HPLC con detector ultravioleta

Se utilizan las siguientes condiciones de medida referenciadas en la bibliografía:

**Fase móvil:** acetonitrilo/ 5mM fosfato (30/70 (v/v)) pH 5

**Velocidad de flujo:** 1.0 mL /min

**$\lambda$ =254 nm**

**Temperatura= 40°C**

**Volumen inyectado =20 $\mu$ L**

Se procedió a la realización de una recta de calibrado , con un intervalo de concentraciones comprendido entre 0.01 y 5.0  $\mu$ g/mL y un volumen inyectado de 20  $\mu$ L, la cual se ajusta linealmente a la ecuación:

$$\text{Area}(\mu\text{V}.\text{Sec}) = 5471.35 \text{ C}(\mu\text{g/mL}) - 2384.9$$

$$r=0.998,$$

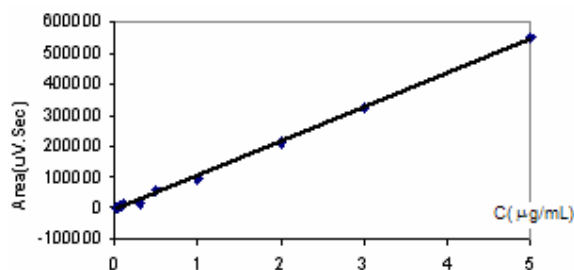


Figura 135

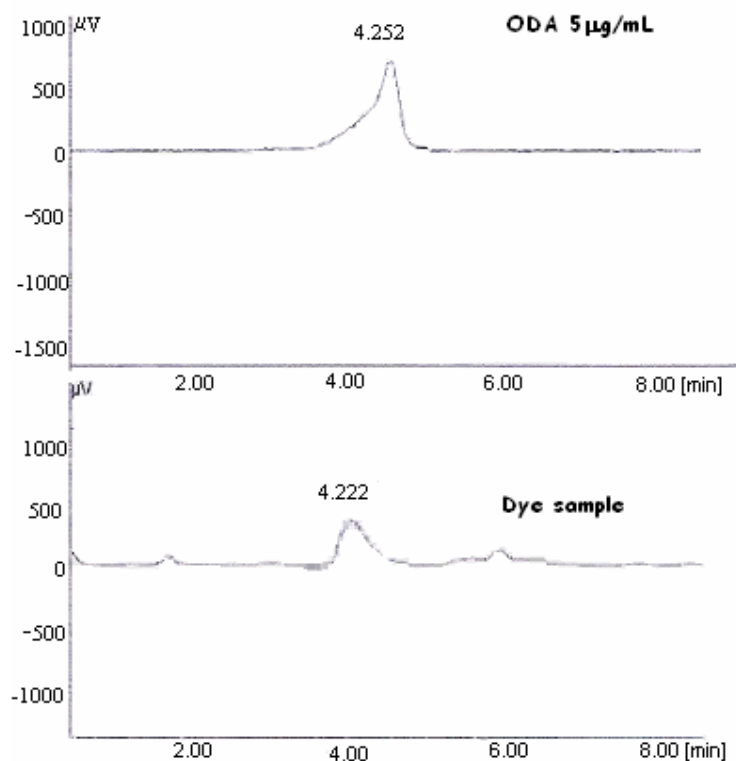
**Recta de calibrado para DADPA con detector electroquímico**

para así, a continuación, por adición estándar tratar de determinar la concentración de ODA presente en las muestras analizadas, un agua residual procedente de una industria textil y un tinte comercial para calzado.

La 4,4'-oxidianilina y la muestra de tinte de calzado, previamente tratada y estabilizada, aparecen a un tiempo de retención que es prácticamente igual, 4.23 y 4.22

minutos respectivamente. Y no obteniéndose señal cromatográfica para la muestra de agua residual.

Para el tinte de calzado se obtienen los cromatogramas de la figura 136, obteniéndose una concentración de 4,4'-oxidianilina de 2.845  $\mu\text{g/mL}$ , siendo esta concentración muy similar a la obtenida en los estudios electroquímicos realizados previamente por medida directa con el electrodo de oro modificado, lo que valida el método.



**Figura 136**  
**Comparación del patrón de ODA con la muestra de tinte**

## **2. HPLC con detector electroquímico**

Se realizaron así mismo las medidas cromatográficas con detección electroquímica utilizando un electrodo de nanopartículas de oro formadas sobre un electrodo de glassy-carbon.

Las condiciones cromatográficas empleadas fueron:

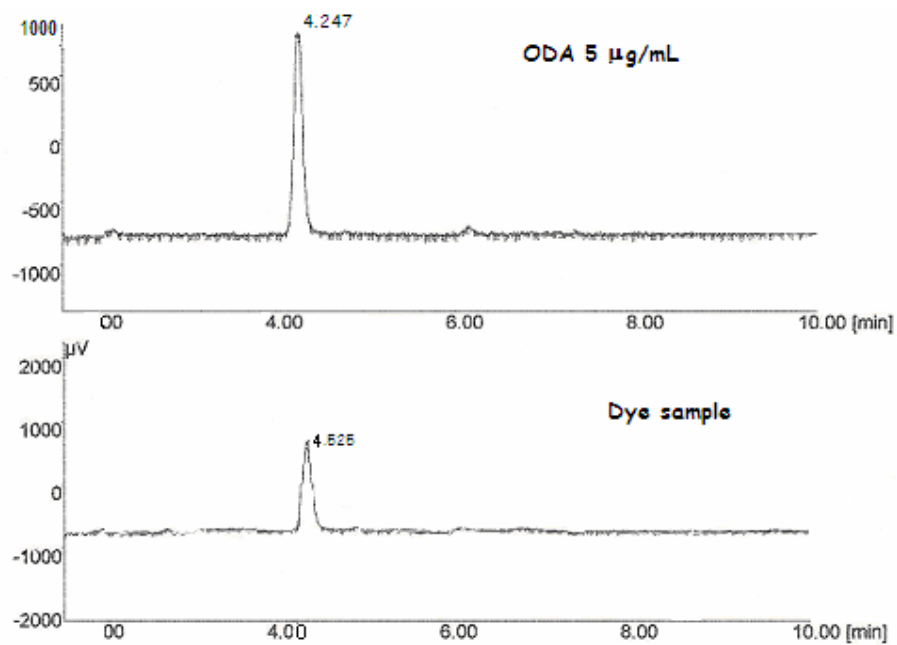
- **Potencial aplicado al electrodo 0.70V frente a un electrodo de plata**
- **Velocidad de flujo: 1mL/min**
- **Fase móvil: acetonitrilo/5mM Fosfato 30/70 a pH 5**
- **Volumen de inyección 20  $\mu$ L**

Con estas condiciones el tiempo de retención para la ODA es de 4.3min (figura 137).

Con una relación lineal entre la concentración y la superficie de pico según la ecuación:

$$\text{Area}(\mu\text{V}.\text{Sec})=11169.5+5245.1C(\mu\text{g/mL})$$
$$r=0.998,$$

Una muestra de tinte comercial para calzado previamente disuelta en fase móvil, presenta un pico cromatográfico al mismo tiempo de retención que la ODA pura (figura 137). Se obtiene una concentración de 3.594  $\mu\text{g/mL}$ , que es muy similar al obtenido mediante voltametría de onda cuadrada, aunque es ligeramente diferente de la obtenida con detección UV.



**Figura 137**  
**Comparación del patrón de ODA con la muestra de tinte**

Para la muestra de agua residual no se obtuvo señal cromatográfica.

## ***4,4'-tiodianilina***

Para la 4,4'-tiodianilina se ha seguido el mismo esquema de trabajo empleado con 4,4'-diaminodifenil amina y 4,4'-oxidianilina, realizándose las medidas cromatográficas mediante HPLC con detector ultravioleta y electroquímico

### **1. HPLC con detector ultravioleta**

Las condiciones de medida fueron las siguientes:

***Fase móvil: acetonitrilo/ 5mM fosfato (30/70 (v/v)) pH 5***

***Velocidad de flujo: 1.0 mL /min***

***$\lambda=254$  nm***

***Temperatura= 40°C***

***Volumen inyectado =20 $\mu$ L***

La TDA presenta un pico cromatográfico a un tiempo de retención de 12.72 minutos

Obteniendo una relación lineal que se ajusta a la ecuación:

$$\text{Area}(\mu\text{V}.\text{Sec}) = 11511 C(\mu\text{g/mL}) + 2226.1$$

$$R^2 = 0.993$$

Concentraciones comprendidas entre 0.01 y 5.00  $\mu\text{g/mL}$ , En la figura 138 a se exponen los cromatogramas obtenidos.

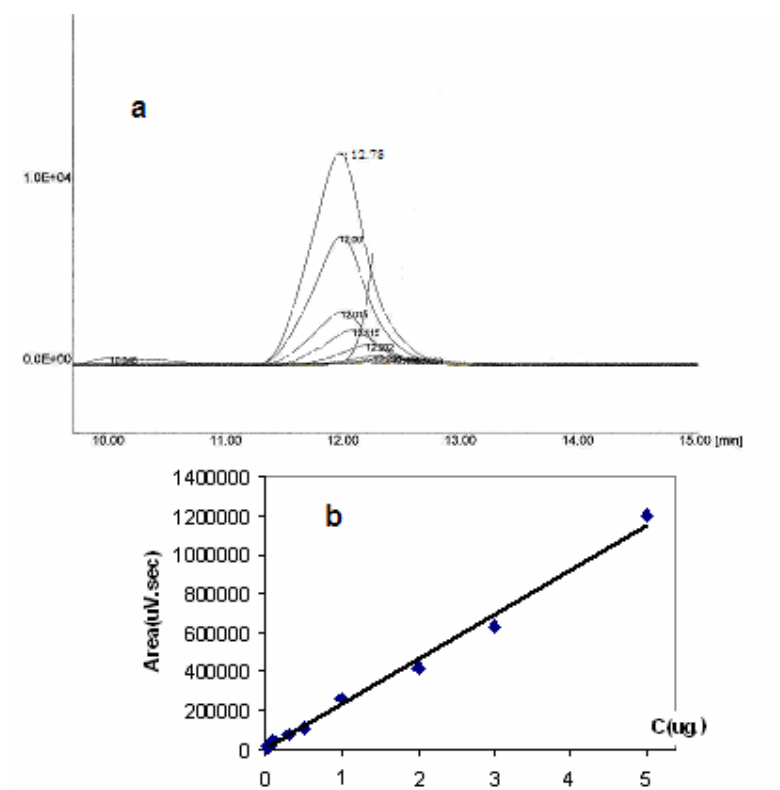


Figura 138

**Recta de calibrado para TDA con detector ultravioleta**

El valor de concentración de TDA obtenida por interpolación del área del pico cromatográfico corresponde a una concentración de 2.25  $\mu\text{g/mL}$ .

**Tabla LXXVII**

	$t_r(\text{min})$	Area ( $\mu\text{V}.\text{Sec}$ )	C( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>Agua residual</b>	12.322	13342.028	<b>2.25</b>

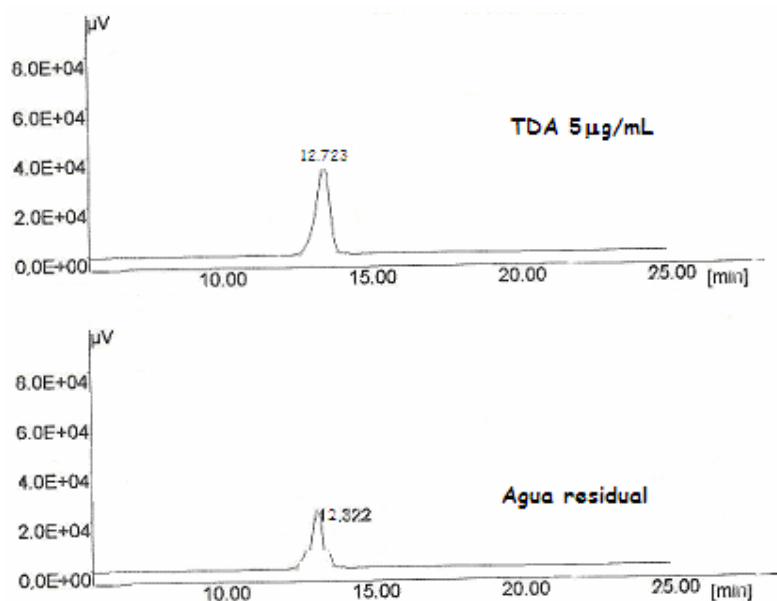


Figura 139

Comparación del patrón de DADPA con la muestra de agua residual

## 2. HPLC con detector electroquímico

Para las medidas con HPLC con detector electroquímico se ha seguido el mismo procedimiento que en el caso del detector ultravioleta, siendo las condiciones de medida:

**Fase móvil:** acetonitrilo/ 5mM fosfato (30/70 (v/v)) pH 5

**Velocidad de flujo:** 1.0 mL /min

**Temperatura=** 40°C

**Volumen inyectado** =20µL

**Potencial=** 700mV frente a un electrodo de plata

La TDA aparece a un tiempo de retención de 12,78minutos.

El calibrado correspondiente para valores comprendidos entre 0.01 y 5.00 µg/mL presenta una relación lineal con ecuación (figura 140).

$$\text{Area}(\mu\text{V}.\text{Sec})=1 \times 10^6 C + 7 \times 10^6$$

$$R^2=0.9967$$

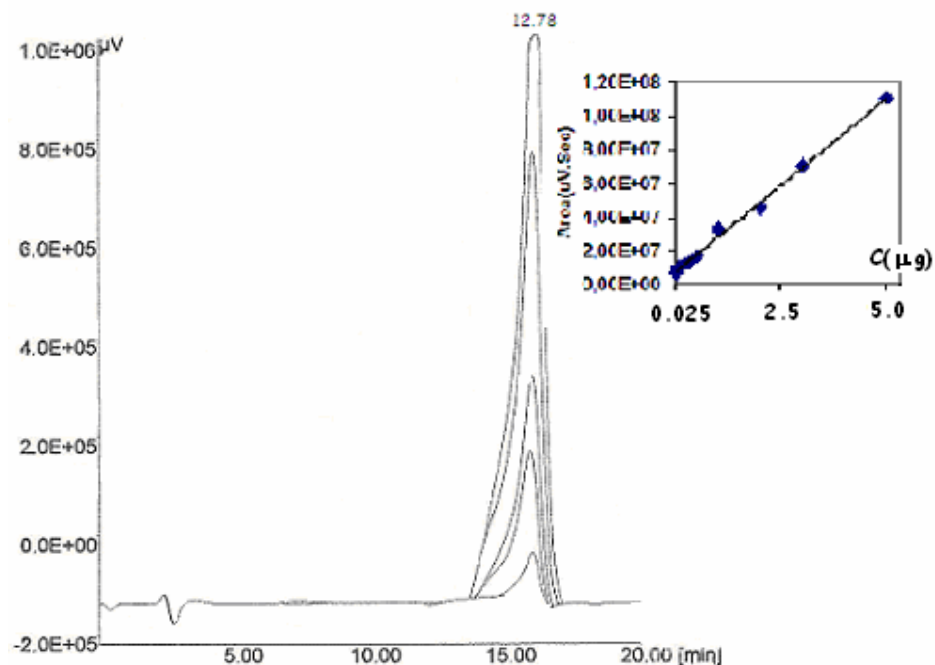


Figura 140

#### Recta de calibrado para TDA con detector electroquímico

El cálculo de la concentración de TDA presente en la muestra de agua residual analizada a lo largo de esta tesis se llevó a cabo mediante la adición estándar, obteniéndose una concentración de  $2.00 \mu\text{g/mL}$  de 4,4'-tiodianilina para la muestra de agua residual. Este valor es semejante al obtenido al utilizar el detector UV.

Tabla LXXVIII

	$t_r(\text{min})$	Area ( $\mu\text{V.Sec}$ )	$C(\mu\text{g/mL})$
<b>Agua residual</b>	12.64	7780000	<b>1.95</b>

En la figura 141 se representan los cromatogramas obtenidos.



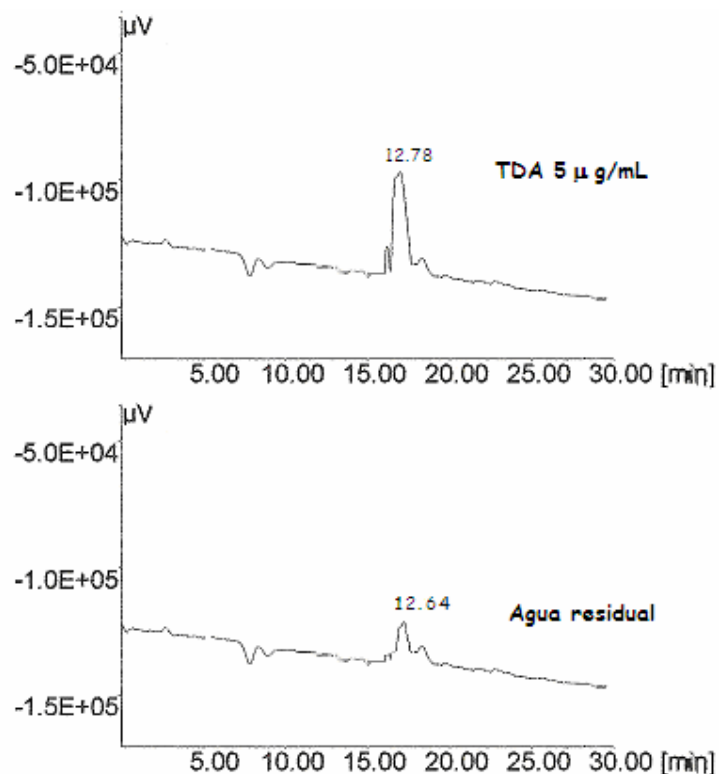


Figura 141

#### Comparación del patrón de DADPA con la muestra de agua residual

Al igual que en el caso de la 4,4'-diaminodifenil amina y la 4,4'-oxidianilina, los datos de concentración obtenidos en el análisis de las muestras empleados se encuentran dentro de los marcados por la Legislación de la Comunidad Europea.

Es posible utilizar la medida directa con el electrodo de oro modificado pues presenta resultados comparables a los encontrados con las medidas cromatográficas.



## **CONCLUSIONES**



A lo largo de la memoria se han ido exponiendo las condiciones más relevantes que se obtienen en cada uno de los resultados realizados.

En este apartado se encuentran resumidas aquellas que pueden considerarse más destacables.

1.- Se encuentran las condiciones mas adecuadas para la determinación electroanalítica por voltamperometría de onda cuadrada de 4,4'-diaminodifenil amina; 4,4'-oxidianilina y 4,4'-tiodianilina, con electrodo de oro, estableciendo las condiciones químicas e instrumentales. Las condiciones para las tres moléculas aparecen resumidas en la Tabla LXXIX.

Tabla LXXIX

	pH	Fuerza iónica (M)	T(°C)	Tiempo de acumulación (s)	Frecuencia (Hz)	Step (mV)	Amplitud de impulsos (mV)
<b>DADPA</b>	3	0.5	10	90	200	3	40
<b>ODA</b>	5	0.5	10	20	200	1	20
<b>TDA</b>	3	0.5	5	10	200	2	50

2.- Se establece el mecanismo de oxidación de los compuestos estudiados. Este mecanismo consta de dos etapas. En la primera etapa se produce la formación del complejo quinónico, y en la segunda etapa se rompe la molécula, como aparece reflejado en las figuras 142 y 143, las cuales corresponden a los mecanismos de oxidación de ODA y TDA respectivamente.

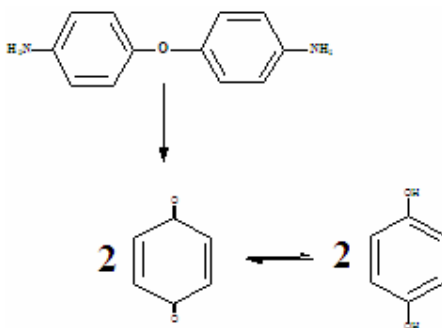
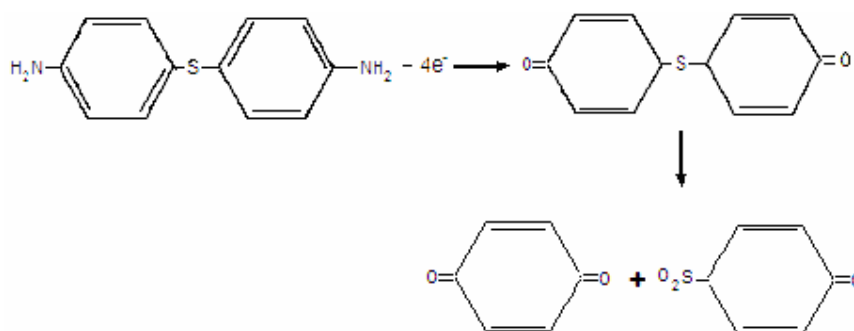


Figura 142  
Mecanismo de oxidación de ODA



**Figura 143**  
**Mecanismo de oxidación de TDA**

3.- Se hallan las mejores condiciones de modificación del electrodo de oro con di-n-octadecildisulfuro, con respecto a concentración, tiempo de reacción y temperatura.

**Tabla LXXX**

	Concetración de C18 (M)	Tiempo de modificación (min)	pH	Fuerza ionica (M)	Temperatura (°C)	Tiempo de acumulación (s)	Frecuencia (Hz)	Step (mV)	Amplitud de impulsos (mV)
<b>DADPA</b>	10-5	10	5	0.5	10	300	120	3	30
<b>ODA</b>	10-5	10	5	0.5	13	90	300	2	30
<b>TDA</b>	10-6	10	3	0.5	5	120	80	2	40

4.- Se encuentran las condiciones mas adecuadas de determinación de DADPA; ODA y TDA, con un electrodo de oro modificado con 1-octanotiol, por voltamperometría de onda cuadrada.

**Tabla LXXXI**

	Concetración de C18 (M)	Tiempo de modificación (min)	pH	Fuerza ionica (M)	Temperatura (°C)	Tiempo de acumulación (s)	Frecuencia (Hz)	Step (mV)	Amplitud de impulsos (mV)
<b>DADPA</b>	10-5	15	11	0.05	10	60	200	3	20
<b>ODA</b>	10-5	5	6	0.5	10	180	200	1	20
<b>TDA</b>	10-4	5	4	0.5	5	120	60	2	10

5.-Se establecen las condiciones de determinación de DADPA por HPLC con detección electroquímica con un electrodo de carbón vitrificado modificado con nanopartículas de oro.

***Fase móvil: acetonitrilo/ 5mM fosfato (20/80 (v/v)) pH 11***

***Velocidad de flujo: 1.0 mL /min***

***Temperatura= 40°C***

***Volumen inyectado =20µL***

***Potencial= 800mV***

6.- Se realiza la aplicación en aguas residuales.

7.- Se validan los resultados obtenidos electroquímicamente mediante cromatografía de líquidos, HPLC.

8.- La utilización de los electrodos modificados con C8 y C18 posibilita la determinación directa de las moléculas estudiadas en aguas residuales y tintes comerciales para cabello y calzado.





## **BIBLIOGRAFÍA**



1. **SINGH, R. L.; KHANNA S.K.; SHANKER R.; SINGH G.B..**  
A cute and short-term toxicity on p-aminodiphenylamine
2. **M.Y. EL-SHEIKH; M.A. SALEM; A.A. ISMAEL; A.B. ZAKI,**  
Oxidation kinetics of p-aminodiphenylamine with peroxysulfate. Departamento of Chemistry, Faculty of Science, Tanta Univesity; Tanta, Egypt (1993)
3. **RAZA H.; KHANNA S.K.; SINGH G.B.; KRISHNAMURTI; COIMBATOUR R.;**  
Interaccion of p-aminodiphenylamina with rat gut mucosal Epithelium. Indian Journal of Experimental Biology.
4. **ERDEY, LASZLO; KASA, IMRE; KLATSMANYI, PIROSKC; MEISEL, TIBOR.**  
Studies of some diphenylamine-type oxidation-reduction systems. Tech. Univ. Budapest, Hungary (1961)
5. **YAMADA, S; NAKANO, M; TAKAHATA, M; KISHI, R; NITTA, T; YAMAGUCHI, K.**  
Theoretical study on static second hyperpolarizabilities for several  $\pi$ -conjugared systems including nitrogen atoms: Effects of charged defecs and extension of  $\pi$ -conjugation. Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka University, Toyonaka, Osaka, Japan. Journal of Physical Chemistry (2004).
6. **KAPELLE, S; RETTIG, W.**  
Charge transfer interactions in dono-acceptor diarylamines. Berlin Inst.Physikalische Theoretische Chem. Bunsenstr., Humboldt-Univ, Berlin, Germany. Journal of Information Recording (1996)
7. **MALEGINA, N.D; GODINA, G.A; KOTOV, B.V; VOISCHCHEV, V.S, PRAVEDNIKOV, A.N.**  
Polypyromellitimides based on 4,4'-diaminodiphenylamine and its derivates.Nauchno-Issled. Fiz.-Khim. Inst. Im. Karpova, Moscow, USSR. Vysokomolekulyarnye Soedineniya, Seriya B: Kratkie Soobshcheniya (1972)

8. **S. KOTHAI NAYAKI AND M. SWAMINATHAN.**

Excited state solvatochromic and prototropic behaviour of 4-aminodiphenylamines and 4,4'-diamiodiphenylamine. A comparative study by electronic spectra. Department of Chemistry, Annamalai University, Annamalaiagar, India (2006)

9. **SOSTED, H; BASKETTER, D.A; ESTRADA, E; JOHANSEN, J.D; PATTEWICZ, G.Y.**

Ranking of hair dye-sustances according to predictad sensitization potency: quantitative struture-activity relationships. The National Allergy Resealch Centre for Consumer Products, Department of Dermatology. Gentofte Hospital, University of Copenhagen, Den. Contact Dermantitis (2004)

10. **LAWRENCE, NATHAN S.; DAVIS, JAMES; JIANG LI; JONES,TIMOTHY G.J; DAVIES, STEPHEN N., COMPTON, RICHARD G.**

Electrochemically initiated reactions of diphenylamines with sulfide: Application to the votammtric detection of hydrogen sulfide Physical and Theoretical Chemistry Laboratory. University of Oxford, Oxford, UK,. Electroanalysis (2001)

11. Resolution of European Commission. Directorate General enterprise and Industry. March 2005

12. **IARC. 1978.**

Some N-Nitroso Compounds. IARC Monographs on the Evaluation of Cancerogenic Risk of Chemical to Humans, vol 17. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 365 pp.

13. **NCI. 1980.**

Bioassay of 4,4'-Oxydianiline for Possible Carcinogenicity (CAS No. 101-80-4). Technical Report Series No 205. DHHD(NIH) Publication No. 80-1761. Bethesda, MD: National Institutes of Health. 131 pp.

14. **IARC. 1982.**

Some Industrial Chemicals and Dyestuff. IARC Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemical to Humans, vol 29. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 416 pp.

15. **IARC. 1987.**

Overall Evaluations of Carcinogenicity. IARC Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemical to Humans, Supplement 7. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 440 pp.

16. **ZELENINA, E. N.; KRASNOV, V. A.**  
U.S.S.R. (1967), CODEN: URXXAF SU 197260 19670531
17. **SHEMYAKIN, F. M.; ZELENINA, E. N. NAUCH.-ISSLED. INST. PLAST. MASS, MOSCOW,**  
Azerbaidzhanskii Khimicheskii Zhurnal (1968), (4), 95-8.
18. **LICHTENSTEIN, NORBERT; PFLAUMBAUM, WOLFGANG; QUELLMALZ, KLAUS; BERNARDS, MONIKA; HENNING, MARTIN.**  
Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft (1997), 57(4), 139-145.
19. **CHEN, XIAOMEI; ZHENG, ZIQIANG; SHI, XUXIA.**  
Zhejiang Imp and Exp commodity Inspection Bureau, Hangzhou, Peop. Rep. China. Sepu (1999), 17(2), 178-181.
20. **SHEMYAKIN, F. M.; ZELENINA, E. N..**  
Opred. Mikroprimesei (1968), No. 2 106-9. From: Ref. Zh., Khim. 1969, Abstr. No. 2G220.
21. **KIBIZOV, YU. V.**  
Zavodskaya Laboratoriya (1971), 37(2), 182-3. CODEN: ZVDLAU ISSN: 0321-4265.
22. **SHVETSOVA, L. N.; SVISTUNOVA, G. P.; SOKOLOV, L. B.; SAVINOV, V. M.**  
Plasticheskie Massy (1976), (5), 74-5. CODEN: PLMSAI ISSN: 0554-2901.
23. **TSUMAN, E. P.; LEVITES, L. M.; ARTAMASOVA, N. P.; KUDRYAVTSEV, G. I.**  
Metody Analiza i Kontrolya Kachestva Produktsii v Khimicheskoi Promyshlennosti (1978), (3), 3-5.
24. **PH sensor.** (Terumo Corp., Japan).  
Jpn. Kokai Tokkyo Koho (1984), 12 pp. CODEN: JKXXAF JP 59024243 A2 19840207 Showa.
25. **YOU, JINMAO; SUN, XUEJUN; LI, HUAINA; ZHOU, LIANJUN.**  
Sepu (1995), 13(3), 213-15.

26. **PLANELLES, F.; VERDU, E.; CAMPELLO, D.; GRANE, N.; SANTIAGO, J. M.**

Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists (1999), 83(3), 125-134.

27. **CIONI, FABIO; BARTOLUCCI, GIANLUCA; PIERACCINI, GIUSEPPE; MELONI, STEFANO; MONETI, GLORIANO.**

Rapid Communications in Mass Spectrometry (1999), 13(18), 1833-1837.

28. **JERETIN, BOGDANA; DURJAVA, MOJCA. ZAVOD ZA ZDRAVSTVENO VARSTVO,**

Editor(s): Glavic, Peter; Brodnjak-Voncina, Darinka. Zbornik Referatov s Posvetovanja Slovenski Kemijski Dnevi, Maribor, Slovenia, Sept. 28-29, 2000 (2000), Meeting Date 2000, (Pt. 1), 366-371.

29. **Dados, A. E.; Stalikas, C. D.; Pilidis, G. A.**

Chromatographia (2004), 59(5/6), 335-341.

30. **MORTENSEN, SARAH KELLY; TRIER, XENIA THORSAGER; FOVERSKOV, ANNIE; PETERSEN, JENS HOJSLEV.**

Journal of Chromatography, A (2005), 1091(1-2), 40-50

31. **WEI-YAN CHANG; YU-HSIANG SUNG; SHANG-DA HUANG.**

Analysis of carcinogenic aromatic amines in water samples by solid-phase microextraction coupled high performance liquid chromatography. Department of Chemistry, National Tsing Hua University, Hsinchu 3003, Taiwan, ROC (2003)

32. **IUE 10.**

Recomendaciones IUE sobre productos químicos limitados en la piel. Documento actualizado en 2001

33. **BOE num 79, miércoles 2 de abril de 2003, pag12701.**

34. **Diario Oficial de las Comunidades Europeas L77/50.**

Decisión de la Comisión del 18 de marzo de 2002

35. **GARRIGOS, M.C.; RECHE, F; MARIN, M.L.; JIMENEZ, A..**

Determination of aromatics amines formed from azo colorants in toy product. Department of analytical Chemistry, University of Alicante, Alicante, Spain. Journal of Chromatography (2002).

36. **LENZ, STEFFEN; SACHER, FRANK; BRAUCH, HEINZ-JURGEN; HAMBSCH, BEATE.**

Development of analytical methods for the determination of genotoxic compounds in water. DVGW- Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe, Germany. Vom Wasser (1998).

37. **KABANKIN, A.S.; KURLYANDSKII, B.S.**

Discriminant analysis of the relationship between topological molecular structure and carcinogenicity of aromatic amines. Russian State Register of Potentially Dangerous Chemical and Biochemical Substances, Moscow, Russia. Pharmaceutical Chemistry Journal (2001)

38. **EKICI, PERIHAN; ANGERHOFER, DANIELA; PARLAR, HARUN.**

Photoinduced reactions of selected azo dye metabolites in water. Department of Chemistry, Technical Analysis and Chemical Food Technology. Technical University of Munich, Freising-Weihenstephan, Germany. Fresenius Environmental Bulletin (2001)

39. **FRANKE, RAINER; GRUSKA, ANDREAS; GUILIANI, ALESSANDRO; BENIGNI, ROMUALDO.**

Prediction of rodent carcinogenicity of aromatic amines: a quantitative structure-activity relationships model. Consulting in Drug Design GbR, Basdorf, Germany. Carcinogenesis (2001)

40. **BRAUER, B; FUNKE, T.**

Determination of primary aromatic amines in cold water extracts of food contact materials of paper and board. Chemisches Landes- und Staatliches Veterinäruntersuchungsamt, Münster, Germany. Deutsche Lebensmittel- Rundschau (2001)

41. **CASH, G.G.**

Prediction of the genotoxicity of aromatic and heteroaromatic amines using electrotopological state indices. Risk Assessment Division, New Chemical Screening and Assessment Branch, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA. Mutation Research (2001)

42. **CIONI, FABIO; BARTOLUCCI, GIANLUCCA; PIERACINI, GIUSEPPE; MELONI, STEFANO; MONETI, GLORIANO.**

Development of a solid phase microextraction method for detection of the use of banned azo dyes in colored textiles and leather. A.R.P.A.T. Dipartimento Provinciale di Firenze, Florence, Italy. Rapid Communications in Mass spectrometry (1999)

43. **PLANELLES, F; VERDÚ, E; CAMPELLO, D; GRANE, N; SANTIAGO, JM.**

Determination of carcinogenic amines in dyed leathers. Association Investigation Footwear Industry, Polígono Industrial Campo Alto, INESCOP, Alicante, Spain. Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists (1999)

44. **TOMASELLI, M; COZZOLINO, A; STASIO, A; CASTIELLO, G.**

Method for analysis of azo dyes. Stazione Sperimentale delle Pelli e delle Materie Conciaty, Naples, Italy. Cuoio, Pelli, Materie Conciaty (1998)

45. **PIELESZ, ANNA; SWIERAZEK, SABINA; WLOCHOWICZ, ANDRZEJ; BARANOWSKA, IRENA.**

Adsorption and partition TLC separation of MAK-type aromatic amines, reduction products of azo dyes. Textile Institute, Bielsko-Biala Brank, Technical University of Lodz, Bielsko-Biala, Poland. Journal of Planar Chromatography- Modern TLC (1999).

46. **SABBIONI, GABRIELE, SCHUETZE, DIETRICH.**

Hemoglobin binding of bicyclic aromatic amines. Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany. Chemical Research in Toxicology (1998)

47. **Vats, Sanjay; Sharma, L.M.**

Square-planar complexes of p-[(p-aminophenyl)thio]phenylpyrrol-2-ylidene with Co(II); Ni(II); Cu(II) and Pd(II) metal ions. Dep. Chem., Nanak Chad Anglo Sanskrit (Post Graduate) Coll., Meert, India. Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry (1996)